

**EDUARDO PACCA LUNA MATTAR**

RESPOSTAS DA ESPÉCIE *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze AO RECOBRIMENTO DE  
SEMENTES COM SUPERFOSFATO TRIPLO E À INOCULAÇÃO COM ESTIRPES DE  
*Bradyrhizobium*

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia  
Vegetal, para obtenção do título de *Magister  
Scientiae*

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M435r  
2015      Mattar, Eduardo Pacca Luna, 1983-  
              Repostas da espécie *Cratylia argentea* (Desvaux) O.  
Kuntze ao recobrimento de sementes com superfosfato  
triplo e à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* /  
Eduardo Pacca Luna Mattar. - Viçosa, MG, 2015.  
              xii, 52f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador : Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Referências bibliográficas: f.45-52.

1. *Cratylia argentea*. 2. Sementes - Efeito do fósforo.  
3. Crescimento (Plantas) - Nodulação - Efeito do fósforo.  
4. Nitrificação. 5. *Bradyrhizobium*. 6. Adubação verde.  
7. Forragem. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação  
em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22. ed. 633.3421

**EDUARDO PACCA LUNA MATTAR**

RESPOSTAS DA ESPÉCIE *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze AO RECOBRIMENTO DE  
SEMENTES COM SUPERFOSFATO TRIPLO E À INOCULAÇÃO COM ESTIRPES DE  
*Bradyrhizobium*

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia  
Vegetal, para obtenção do título de *Magister  
Scientiae*

APROVADA: 24 de fevereiro de 2015.

  
\_\_\_\_\_  
Walter J. R. Matrangolo

  
\_\_\_\_\_  
Marcelo Coelho Sekita

  
\_\_\_\_\_  
Denise C. F. S. Dias  
(Orientadora)

*A minha esposa e filho, Patrícia  
e Carlos Miguel por todo amor,  
carinho e companheirismo,  
**Dedico***

## AGRADECIMENTOS

Ao Deus, por me guiar na caminhada da vida.

À minha família, por me apoiar em todos os momentos.

À minha orientadora Profa. Dra. Denise C. F. S. Dias, pelos ensinamentos, orientação, amizade e confiança.

Aos meus coorientadores Profs. Dr. Edson Marcio Mattiello e Dr. Fábio DaMatta pelo apoio na elaboração do projeto, execução do trabalho, confiança e ensinamentos.

Aos pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Dra. Márcia Reed Rodrigues Coelho e Dr. Walter Jose Rodrigues Matrangolo, pelos ensinamentos, confiança e parceria.

Aos servidores e alunos dos Programas de Fisiologia Vegetal, Solos e Nutrição de Plantas e Fitotecnia; pelos ensinamentos e amizade.

Ao Grupo de Estudos em Produção e Tecnologia de Sementes – GSEM / UFV pela amizade e ensinamentos.

Aos amigos da equipe e do dia a dia de trabalho: Msc. Paulo César Hilst, Msc. Dalcionei Pazzin, Prof. Dr. Laercio Junio da Silva, Msc. Paola Andrea Hormaza Martinez, Daniel Teixeira Pinheiro, José Custodio, Profa Dra. Eveline M. Alvarenga, Thais de Castro Morais, Aparecida Leonir da Silva, Rafaela Marques de Miranda, Tiago Viana, Dr. Marcelo Sekita, Guilherme Valory, Gisela Chipenete, Joyce Araújo, Larissa Lopes, Hamilton C, dos Santos Junior, Luiz Renato Cadore, Mateus Geraldo Simões, Rômulo Endrigo Leal Duarte, MSc. Antônio Cesar Batista Matos, Lucian Alex Santos, Maicon Nascimento Araújo; pela amizade, ajuda na execução do trabalho e ensinamentos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Acre – FAPAC e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e voto de confiança.

Ao Centro para la investigación en sistemas sostenibles de producción agropecuária – CIPAV, pelos ensinamentos e parceria.

Ao Dr. Enrique Murgueitio e ao engenheiro agrônomo Luis Fernando Castro, pelos ensinamentos e parceria

À Universidade Federal de Viçosa, pelo ensino proporcionado, infraestrutura disponibilizada e investimento depositado.

À Universidade Federal do Acre, pelo voto de confiança e pelo investimento depositados.

Aos mestres em solos e nutrição de plantas, MSc. Vander Novais e MSc. Lucas Ávila, pela ajuda na execução do trabalho e ensinamentos.

Ao doutorando em fitotecnia, MSc. Marcos Gleidson Pereira dos Santos, pela ajuda na execução do trabalho e ensinamentos.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG e ao pesquisador Dr. Rogério Vieira pela infraestrutura disponibilizada e ensinamentos.

À Dra. Genaina Aparecida de Souza, à Dra Loane Fernades, Prof. Dr. Edgard Augusto de Toledo Picoli, Profa Dra Maria Catarina Megumi Kasuya e Profa Dra Irene Maria Cardoso pela ajuda na execução do trabalho e ensinamentos.

Aos amigos do programa: Msc. Gutenberg de Almeida Nascimento, Renan Paulo Rocha, Paula Cristina Carvalho Lima, José Adelcio de Oliveira Júnior, Carla Silva Dias, MSc. Dalton Dias da Silva Junior, Msc. Carla Bastos, MSc. Willian Batista da Silva, MSc. Vitor de Laia Nascimento, MSc. David Barbosa Medeiros, Msc. Auxiliadora Oliveira Martins, MSc. Martielly Santana dos Santos, ; pela amizade, ajuda na execução do trabalho, estudos em grupo e ensinamentos.

Aos servidores MSc. José Maurício Machado Pires, Rogério Gomide, Camilo de Lelis Ferreira da Silva e Carlos Antonio da Fonseca pela ajuda na execução do trabalho e ensinamentos.

Ao Dr. Bruno Portela Brasileiro, pela amizade e ensinamentos.

Aos amigos Dra. Eliane de Oliveira e MSc. Elizio Frade Junior, pelo apoio na execução do trabalho e parceria.

As EMBRAPA Agrobiologia e a EMBRAPA Milho e Sorgo pelo apoio na execução da pesquisa.

Aos membros da banca pelas valiosas sugestões e ensinamentos.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
<b>INTRODUÇÃO</b>	01
<i>Informações gerais sobre a espécie</i>	01
<i>Recobrimento de sementes com fertilizante fosfatado</i>	02
<i>Simbiose com bactérias fixadoras de N</i>	04
<i>Trocas gasosas e fluorescência</i>	04
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	05
<i>1. Obtenção do lote e análises bioquímica e nutricional das sementes</i>	05
<i>2. Doses e quantidade de material aderido às sementes</i>	06
<i>3. Qualidade fisiológica das sementes em função do recobrimento das sementes com superfosfato triplo</i>	07
<i>3.1. Germinação</i>	07
<i>3.1.1. Porcentagem de germinação</i>	07
<i>3.1.2. Índice de velocidade de germinação (IVG) e Velocidade de germinação (VG)</i>	07
<i>3.2. Envelhecimento acelerado</i>	07
<i>3.3. Emergência em areia</i>	08
<i>3.3.1. Índice de velocidade de emergência (IVE) e Velocidade de emergência (VE)</i>	08
<i>3.3.2. Comprimento, área projetada, área de superfície e volume das raízes das plântulas</i>	08
<i>3.3.3. Matéria seca da parte aérea e da raiz das plântulas</i>	09
<i>3.3.4. Comprimento da raiz principal e parte aérea</i>	09
<i>4. Material visual para apoio na classificação de plântulas</i>	09
<i>5. Desenvolvimento inicial e aspectos vinculados as trocas gasosas e fluorescência em função do recobrimento de sementes com superfosfato triplo</i>	10
<i>5.1. Número de nós, número de folhas e altura da planta</i>	10
<i>5.2. Matéria seca da raiz e da parte aérea</i>	10
<i>5.3. Comprimento, área projetada, área de superfície e volume das raízes das plantas</i>	10

<i>5.4. Posição dos estômatos</i>	11
<i>5.5. Trocas gasosas em função de períodos do dia</i>	11
<i>5.6. Fotossíntese líquida em função da luz</i>	11
<i>5.7. Fluorescência da clorofila a</i>	12
<i>5.8. Densidade estomática</i>	12
<i>6. Avaliação da eficiência de inoculantes</i>	12
<i>7. Desenvolvimento das plantas inoculadas e efeito da nodulação em funções do tempo</i>	14
<i>8. Análise estatística</i>	15
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	16
<i>Composição bioquímica e nutricional do lote de sementes</i>	16
<i>Doses e recobrimento</i>	17
<i>Avaliação da germinação e vigor das sementes em função do recobrimento com adubo fosfatado</i>	20
<i>Material visual para apoio na classificação de plântulas</i>	28
<i>Desenvolvimento das plantas com e sem recobrimento de sementes com superfosfato triplo</i>	31
<i>Posição dos estômatos</i>	33
<i>Informações sobre fotossíntese</i>	34
<i>Eficiência de inoculantes</i>	35
<i>Desenvolvimento das plantas inoculadas e efeito da nodulação em funções do tempo</i>	41
<b>CONCLUSÕES</b>	44
<b>REFERÊNCIAS</b>	45

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01:</b> Propriedade Las Cañas que utiliza semeadura direta de Cratília para sistema de pastoreio direto em consórcio com a gramínea <i>Paspalum notatum</i> e como banco de proteínas.	03
<b>Figura 02:</b> Banco de sementes de <i>C. argentea</i> . Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG.	06
<b>Figura 03:</b> Ensaio com o teste de emergência em areia. Uso de células individuais para cada semente.	08
<b>Figura 04:</b> Aferição de parâmetros das raízes de plântulas de cratília através do sistema de análise de imagem WinRHIZO.	09
<b>Figura 05:</b> Plantas cultivadas de cratília em vasos Leonard	13
<b>Figura 06:</b> Inoculantes turfosos com estirpes de <i>Bradyrhizobium</i>	14
<b>Figura 07:</b> Sementes com diferentes condições de recobrimento. (A) Dose de 10 g por 100 sementes, (B) Dose de 7,5 g por 100 sementes, (C) Dose de 5 g por 100 sementes, (D) Dose de 2,5 g por 100 sementes (E) Dose de 1,25 g por 100 sementes e (F) sem recobrimento.	19
<b>Figura 08:</b> Relação entre material aderido às sementes de cratília e doses de superfosfato triplo	19
<b>Figura 09:</b> Curva de emergência de plântulas normais durante o teste de emergência em areia em resposta às diferentes doses de superfosfato triplo utilizadas no recobrimento das sementes de cratília	20
<b>Figura 10:</b> Porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de cratília em função das doses utilizadas.	21
<b>Figura 11:</b> Curva de formação de plântulas normais em resposta às diferentes doses de superfosfato triplo utilizadas no recobrimento de sementes de cratília. (A) Teste de germinação; (B) Teste de envelhecimento acelerado.	23
<b>Figura 12:</b> Germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado	24
<b>Figura 13:</b> Velocidade de germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado	26
<b>Figura 14:</b> Índice de velocidade de germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado.	26
<b>Figura 15:</b> Plantas anormais de cratília (a, c, e) Plântulas com sistema radicular pouco desenvolvido (b, f) Plântulas com sistema radicular danificado (d) Plântula com má formação do sistema radicular e parte aérea.	29
<b>Figura 16:</b> Plantas normais de cratília (a, b, c) Plântulas normais (d) Plântula com curva no hipocótilo, contudo resultará em uma planta normal (e, f) Plântulas com desenvolvimento radicular moderadamente mais lento, contudo resultarão em plantas normais.	30
<b>Figura 17:</b> Plantas de <i>C. argentea</i> aos 75 dias após o plantio. (a) com recobrimento e com adubação fosfatada - CRCP; (b) com recobrimento e sem adubação fosfatada - CRSP; (c) sem recobrimento com adubação fosfatada - SRCP; (d) sem recobrimento e sem adubação fosfatada – SRSP	31

<b>Figura 18:</b> (A) Face abaxial da epiderme foliar (B) Face adaxial da epiderme foliar, ilustrando que a <i>C. argentea</i> é uma planta hipostomática.	34
<b>Figura 19:</b> Taxa de fotossíntese ( $A_N$ ) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) para espécie <i>C. argentea</i> . $A_N$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e RFA ( $\mu\text{mol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).	35
<b>Figura 20:</b> Plantas de <i>C. argentea</i> com 150 dias: (a) planta com inoculante SEMIA 6462 (b) planta com inoculante SEMIA 6464; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N.	38
<b>Figura 21:</b> Plantas de <i>C. argentea</i> com 150 dias: (a) planta com inoculante CEPAC-B10; (b) planta com inoculante CR 42; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N.	38
<b>Figura 22:</b> Plantas de <i>C. argentea</i> com 150 dias: (a) planta com inoculante CR 33; (b) planta com inoculante CR 52; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N.	39
<b>Figura 23:</b> Raiz de planta de cratília inoculada com CR 52 após 150 dias do plantio. Presença de nódulos e bom desenvolvimento da raiz principal.	40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Propriedades químicas do solo onde as sementes foram produzidas, EMBRAPA Milho e Sorgo.	5
<b>Tabela 02:</b> Composição bioquímica de sementes de <i>C. argentea</i> :	16
<b>Tabela 03:</b> Composição nutricional de sementes de <i>C. argentea</i> .	17
<b>Tabela 04:</b> Material aderido (cola FTA+ adubo) na semente para as doses utilizadas em cada teste.	18
<b>Tabela 05:</b> Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 11 variáveis avaliadas no teste de emergência de plântulas em areia. Porcentagem de emergência de plântulas (E), comprimento da raiz principal (CRP), comprimento da parte aérea (CPA), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de velocidade de emergência (IVE), velocidade de emergência (VE), comprimento total da raiz (CR), área de projeção da raiz (APR), área de superfície da raiz (ASR) e volume da raiz (VR). CRP (cm / plântula), CPA (cm / plântula), MSPA (mg / plântula), MSR (mg / plântula), CR (cm de raiz / plântula), APR (cm <sup>2</sup> de raiz / plântula), ASR (cm <sup>2</sup> de raiz / plântula) e VR (cm <sup>3</sup> de raiz / plântula).	22
<b>Tabela 06:</b> Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 3 variáveis avaliadas no teste de germinação. Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e velocidade de germinação (VG).	27
<b>Tabela 07:</b> Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 3 variáveis avaliadas no teste de envelhecimento acelerado.	27
<b>Tabela 08:</b> Média das variáveis: relação da parte aérea e raiz (RPAR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), comprimento total da raiz (CR), área projetada pela raiz (APR), superfície total da raiz (SR) e volume total da raiz (VR), número de nós, número de folhas e altura, após 75 dias após o plantio, em 4 tratamentos: com recobrimento das sementes de superfosfato triplo e com adubação fosfatada (CRCP), sem recobrimento das sementes de superfosfato triplo e com adubação fosfatada (SRCP), com recobrimento das sementes de superfosfato triplo e sem adubação fosfatada (CRSP) e sem recobrimento das sementes de superfosfato triplo e sem adubação fosfatada (SRSP). MSPA (g), MSR (g), CR (cm), APR (cm <sup>2</sup> ), SR (cm <sup>2</sup> ), VR (cm <sup>3</sup> ) e altura (cm).	32
<b>Tabela 09:</b> Média das variáveis fotossíntese líquida ( $A_N$ ), respiração noturna (R), relação $F_v / F_m$ e densidade estomática (DE). $A_N$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), R ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e DE (Un. / mm <sup>2</sup> )	33
<b>Tabela 10:</b> Médias das variáveis fotossíntese líquida ( $A_N$ ) condutância estomática (gs) e transpiração (E), aferidas em cratília aos 75 dias após o plantio. $A_N$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), RFA ( $\mu\text{mol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e E ( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).	35
<b>Tabela 11:</b> Matéria seca da parte aérea (MSPA), número de nódulos (NN), Matéria seca dos nódulos (MSN), teores de N (N) e proteína bruta (PB) da parte aérea, após 150 dias do plantio, em três tratamentos: com	37

inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). MSPA (g), NN (Un.), MSN (g), N (dag / Kg) e PB (dag / Kg).

**Tabela 12:** Médias das variáveis número de nós, número de folhas e altura, aos 145 dias após o plantio, dos tratamentos: com inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). Especificamente para os tratamentos CI, foram utilizados os inoculantes: SEMIA 6464, SEMIA 6462, CR 33, CR 42, CR 52 e CEPAC – B10. Número de nós (Un.), número de folhas (Un.) e altura (cm). 41

**Tabela 15:** Médias das variáveis, número de nós, número de folhas e altura, no período de 70 a 145 dias após o plantio, para os tratamentos: com inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). Especificamente para o tratamento CI, foi utilizado o inoculante CR 52. Número de nós (Un.), número de folhas (Un.) e altura (cm). 43

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$A_N$	Fotossíntese líquida
APA	Altura da parte aérea
APR	Área de projeção da raiz
ASR	Área de superfície da raiz
CI	Tratamento com inoculante e sem adubação nitrogenada
CN	Tratamento sem inoculante e com adubação nitrogenada
CR	Comprimento total da raiz
CRCP	Tratamento contendo semente recoberta com superfosfato triplo em solo com adubação fosfatada
CRSP	Tratamento contendo semente recoberta com superfosfato triplo em solo sem adubação fosfatada
DE	Densidade estomática
E	Transpiração
$F_v/F_m$	Eficiência fotoquímica máxima do FSII
G	Porcentagem de germinação
$g_s$	Condutância estomática
IVE	Índice de velocidade de emergência
IVG	Índice de velocidade de germinação
MSN	Matéria seca dos nódulos
MSPA	Matéria seca da parte aérea
MSR	Matéria seca da raiz
NN	Número de nódulos
PR	Profundidade da raiz
R	Respiração noturna
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa
RPAR	Relação da massa seca da parte aérea com a massa seca da raiz
SI	Tratamento sem inoculante e sem adubação nitrogenada
SRCP	Tratamento contendo semente sem recobrimento em solo com adubação fosfatada
SRSP	Tratamento contendo semente sem recobrimento em solo sem adubação fosfatada
VE	Velocidade de emergência
VG	Velocidade de germinação
VR	Volume total da raiz

## RESUMO

MATTAR, Eduardo Pacca Luna, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2015. **Respostas da espécie *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze ao recobrimento de sementes com superfosfato triplo e à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*.** Orientadora: Denise Cunha. F. dos S. Dias.

A *Cratylia argentea* é uma espécie nativa com alta plasticidade fenotípica aos fatores abióticos e com potencial econômico para uso na alimentação animal e adubação verde, sendo alternativa promissora para áreas de menor fertilidade do solo em regiões tropicais. Contudo, é uma planta pouco estudada e utilizada no Brasil e não existem cultivares registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Neste contexto o estudo objetivou analisar os potenciais de usos das técnicas de recobrimento de sementes com superfosfato triplo e da aplicação na semeadura de inoculantes contendo estirpes de *Bradyrhizobium*. Procedeu-se: a análise de germinação e vigor em sementes de *C. argentea* recobertas, avaliação do desenvolvimento vegetal de plantas com sementes recobertas cultivadas em Latossolo Vermelho - Amarelo e a avaliação da eficiência de inoculantes seguindo o protocolo do MAPA; sendo o primeiro conduzido em laboratório e os dois últimos realizados em casa de vegetação. Foram utilizadas as doses de 0, 1,25, 2,5, 5, 7,5 e 10 g de super fosfato triplo por 100 sementes e os inoculantes CR 33 (BR10243), CR52 (BR10257), CR42 (BR10244), CEPAC-B10, SEMIA 6464 (BR3262) e SEMIA 6462 (BR3267). Adicionalmente, realizaram-se para a espécie estudos básicos sobre: a fotossíntese em funções dos períodos do dia e da intensidade luminosa, a posição dos estômatos na epiderme foliar e a composição bioquímica das sementes. A técnica de recobrimento com superfosfato triplo não é recomendada para a espécie e o inoculante CR 52 foi o único que viabilizou a nodulação na espécie, sendo que seu efeito foi observado a partir dos 85 dias após o plantio. O amido e as proteínas são os principais componentes de reserva das sementes e a fotossíntese para *C. argentea* é mais elevada no período da manhã, sendo que as maiores taxas ocorreram na faixa de 750 e 1000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa

## ABSTRACT

MATTAR, Eduardo Pacca Luna, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Responses of species *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze after seed coating with triple superphosphate and inoculation of *Bradyrhizobium*.** Adviser: Denise Cunha F. dos S. Dias.

The *Cratylia argentea* is a native species with high phenotypic plasticity to abiotic factors and economic potential for use in animal feed and green fertilization, and promising alternative for areas with lower soil fertility in tropical regions. However, there is a few studies and utilization with this plant in Brazil and there are no cultivars registered in the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. In this context, the study aimed to analyze the potential uses of seed coating technique with triple super phosphate and application of inoculants in sowing containing *Bradyrhizobium*. Germination and vigor analysis of *C. argentea* coated seeds, evaluation of plant development, grown from coated seeds in Red Yellow Latosol (Oxisol) and the evaluation of inoculants efficiency following the MAPA protocol; in which, the first one was conducted in laboratory and the last two performed in the greenhouse. The doses used were 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 and 10 g triple superphosphate for 100 seeds and the inoculants: CR 33 (BR10243), CR52 (BR10257), CR42 (BR10244) CEPAC-B10, SEMIA 6464 (BR3262) and SEMIA 6462 (BR3267). Additionally, basic studies were done for the species: the relation of photosynthesis between the time of day and the light intensity, the position of the stomata on the leaf epidermis and the biochemical composition of the seeds. The coating technique with triple superphosphate is not recommended for the species and the CR 52 inoculant was the only one which resulted in nodulation for the species, and its effect was observed from 85 days after planting. The starch and protein are the main reserve components of seeds and the photosynthesis in *C. argentea* is higher in the morning, and the highest rates were in the range of 750 and 1000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  photosynthetically active radiation.

## INTRODUÇÃO

### *Informações gerais sobre a espécie*

*Cratylia* é um gênero neotropical de leguminosas distribuído principalmente no Brasil, Perú, Bolívia e nordeste da Argentina (Lascano et al., 2002). A *Cratylia argentea* é a espécie mais amplamente distribuída. (Queiroz, 1991; Lascano et al., 2002), ocorrendo no Brasil em ambientes diversos como: cerrado, floresta amazônica e caatinga (Queiroz, 1991). No Brasil é conhecida pelos nomes de: camaratuba, copada, cipó-prata (Ramos, 2003) e cratília.

Aparentemente, as sementes não apresentam características que favoreçam a dispersão, pois não apresentam estruturas que sirvam de alimento para animais e são mais densas que a água, ou seja, não flutuam. Considerando estes aspectos, a disseminação na espécie parece ser por deiscência dos frutos (autocórica).

A *C. argentea* é um arbusto que se ramifica na base do caule alcançando até 3 metros de altura e possui alta capacidade de rebrotar, resultante do crescimento vigoroso das raízes (Lascano et al., 2002; Herazo, 2006). Apresenta tal capacidade também no período seco (Argel & Lascano, 1999; Castillo et al., 2007) com tolerância às secas prolongadas sem a perda das folhas (Castillo et al., 2007; Xavier et al., 1997; Pizarro et al., 1995). Apesar de se comportar como arbusto, próxima de outras plantas pode assumir hábito de lianas (Queiroz, 1991).

O valor nutritivo de *C. argentea* se destaca entre as leguminosas arbustivas adaptadas aos solos ácidos, possuindo faixa de proteína bruta entre 18% e 30% da matéria seca e com apenas vestígios de tanino. Valor próximo ao da *Gliricidia sepium* e da *Leucaena leucocephala*, espécies também utilizadas como forragens. (Cook et al, 2005). É indicada tanto para pastagem em consórcio com gramíneas, como para banco de forragem durante estação seca (Cook et al, 2005), sendo que Argel et al. (2000) mencionaram a importância de ensilado com folhas da espécie como suplemento para vacas leiteiras em propriedades familiares e Sarria e Martens (2013) ressaltaram seu potencial para servir como alimento aos suínos.

Apesar de seu uso ser pouco difundido no Brasil, apresenta potencial para ser utilizada em propriedades familiares localizadas nas regiões tropicais com baixa disponibilidade de fontes de proteína para alimentação animal ou, também, como alternativa para redução de gastos com insumos externos.

### *Recobrimento de sementes com fertilizante fosfatado*

A *C. argentea* se adapta bem em solos pobres, ácidos e com alta concentração de alumínio, mas responde a adubação, com maiores rendimentos de matéria seca em trópicos úmidos com solos de fertilidade média (Argel e Lascano, 1999). O rendimento de produção de matéria seca da espécie é influenciado por: fertilidade do solo, densidade de plantio, idade do primeiro corte e idade da planta (Argel e Lascano, 1999).

Xavier et al. (1997) demonstraram que o crescimento de cratília foi satisfatório com aplicações de fósforo e calcário, sendo que a calagem contribuiu para aumentar a eficiência do P aplicado e Xavier et al. (1996) estabeleceram os níveis críticos de P interno e externo da cratília cultivada em Latossolo Vermelho – Amarelo em 7,8% e 0,1%, respectivamente. Segundo Xavier e Carvalho (1995), a calagem pode contribuir para acelerar o estabelecimento da planta e diminuir o requerimento inicial de P. Quiroz et al. (2003) ressaltaram a boa adaptação em solos ácidos de baixa fertilidade, mas descreve maior produção de forragem com a realização de calagem.

O conhecimento das exigências nutricionais de cratília é importante para melhor aproveitamento do potencial forrageiro desta espécie (Xavier et al., 1997). Argel e Lascano (1999) e Maas (1995) destacaram a importância de estudos referentes à resposta da *C. argentea* à fertilidade do solo sendo que o estudo de Xavier et al. (1997) verificou que a espécie respondeu bem às aplicações de fósforo e calcário em Latossolo Vermelho – Amarelo.

A planta de cratília mesmo apresentando maior vigor em relação a outras espécies, como *Leucaena leucocephala* (Argel e Lascano, 1999), possui crescimento inicial lento (Kerridge e Lascano, 1995; Argel e Lascano, 1999), sendo escassas as informações sobre o crescimento desta espécie em resposta à adubação, principalmente, via recobrimento das sementes. A técnica de recobrimento de sementes com fertilizantes apresenta potencial para a espécie, que é multipliada por sementes. A *C. argentea* não apresenta resultados promissores quando propagada vegetativamente (Pizarro et al., 1995), sendo comum a prática de semeadura direta no solo, que já está sendo adotada na propriedade Las Cañas, localizada no Vale do Cauca, Colômbia (Figura 1). Nesta propriedade, em solos cobertos com a gramínea *Paspalum notatum*, a semeadura é realizada diretamente no solo após a aplicação de herbicida em linhas de plantio.

As sementes são circulares e achatadas, sendo consideradas grandes em relação a outras arbustivas (Ramos et al., 2003), não necessitando de escarificação antes da semeadura (Lascano et al., 2002; Sanabria et al., 2004).



**Figura 01:** Propriedade La Cañas que utiliza semeadura direta de *Cratília* para sistema de pastoreio direto em consórcio com a gramínea *Paspalum notatum* e como banco de proteínas. Fotografia: Eduardo Mattar

Em soja, o recobrimento de sementes com fósforo pode aumentar a produtividade dependendo das doses e fontes utilizadas, sendo que a dose de 21 gramas de fitina / kg de sementes aumentou a produtividade em mais de 14% do peso total de grãos (Peske et al., 2009). Soares et al (2014) relataram que em condição de menor disponibilidade de fósforo no solo, o recobrimento das sementes com P proporciona aumento na nodulação e crescimento das plantas de soja. Trigo et al. (1997) descreveram que o incremento da concentração de fósforo na semente de soja propicia um aumento do potencial de rendimento da futura planta. Vasconcellos et al. (2000) observaram que peletes com calcário ou termofosfato magnésiano favoreceram o crescimento inicial de plântulas de sorgo e absorção de P e de K.

O fósforo está envolvido no controle de reações enzimáticas chave de regulação das vias metabólicas (Abel et al, 2002). É componente molecular de ácidos nucleicos, fosfolípidios e ATP e, conseqüentemente, as plantas não podem crescer sem um suprimento confiável deste nutriente; sendo o segundo macronutriente mais limitante para o crescimento da planta (Schachtman et al, 1998). Zelonka et al (2005), que avaliaram os trabalhos de Bielecki (1973), Theodorou e Plaxton (1993) e Marschner (1999), sugerem que a quantidade de fósforo nas plantas varia de 0,05% a 0,50% do total de matéria seca.

### *Simbiose com bactérias fixadoras de N*

Não existem cultivares e inoculantes registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para *C. argentea*, sendo poucos os trabalhos sobre aspectos relacionados à fixação biológica de nitrogênio para esta espécie. Informações sobre estirpes de *Bradyrhizobium* e sobre o momento de início na nodulação são escassas.

A espécie tem a capacidade de realizar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (Castillo et al., 2007; Calazans et al., 2010) sendo que Argel & Lascano (2002) e Pizarro (2005) descrevem que a mesma responde à inoculação de cepas de *Rhizobium* de feijão caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ), comuns em solos tropicais. Estima-se que nodulação ocorra a partir de 100 dias após a semeadura (Oliveira et al, 1998), contudo não foram encontradas informações que definem este período com precisão.

### *Trocas gasosas e fluorescência*

Estudos relacionados às trocas gasosas e a fluorescência na *C. argentea* são escassos, por outro lado, podem gerar informações relevantes para caracterização da espécie e adequada avaliação do seu potencial de uso em campo. Servem como ferramentas úteis durante ensaios que comparam plantas submetidas a diferentes condições ambientais ou estresses bióticos/abióticos, incluindo níveis de adubação.

A mensuração da relação  $F_v / F_m$ , por exemplo, pode levantar informações sobre a extensão de danos causados por estresses que influenciam a eficiência fotoquímica do FSII (Björkman e Adams, 1987). Dados sobre resposta fotossintética à luz revelam se a planta cresce sob luz solar plena ou crescem a sombra e, o comportamento da taxa de assimilação de  $CO_2$  durante o dia pode gerar informações sobre potencial de desenvolvimento da espécie em diferentes sistemas agroflorestais.

Especificamente em relação aos ensaios que avaliam respostas das plantas à adubação fosfatada, as análises das taxas de fotossíntese e de respiração merecem destaque. A disponibilidade de fosfato tem consequências para o crescimento e fisiologia das plantas, pois tal nutriente desempenha função estrutural e regulatória para o metabolismo do carbono e a conservação de energia

(Abel et al, 2002), sendo que influencia diretamente o processo respiratório em plantas (Theodorou & Plaxton, 1993).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Obtenção do lote e análises bioquímica e nutricional das sementes

O lote de sementes foi colhido em outubro de 2013 em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas - Minas Gerais (Figura 02) e armazenado em câmara fria a 10 °C. As propriedades químicas do latossolo onde as sementes foram produzidas estão descritas na Tabela 01.

**Tabela 01:** Propriedades químicas do solo onde as sementes foram produzidas, EMBRAPA Milho e Sorgo. Dados cedidos pela EMBRAPA Milho e Sorgo.

Parâmetros	Profundidade (cm)		
	0-20	20-40	40-60
N %	0,18	0,15	0,14
pH H <sub>2</sub> O	5,5	5,6	5,5
H+Al cmol/cm <sup>3</sup>	7,11	6,35	7,38
Fósforo Mehlich 1 mg/dm <sup>3</sup>	2,18	1,432	1,619
Matéria orgânica dag/Kg	3,44	2,89	2,87
Carbono %	2	1,68	1,67
Al cmolc / dm <sup>3</sup>	0,143	0,2	0,519
Ca cmolc / dm <sup>3</sup>	2,738	1,938	1,225
Mg cmolc / dm <sup>3</sup>	0,284	0,201	0,107
K mg / dm <sup>3</sup>	39,261	19,981	17,201
SB cmolc / dm <sup>3</sup>	3,122	2,19	1,376
CTC cmolc / dm <sup>3</sup>	10,232	8,54	8,756
V %	30,514	25,648	15,714
Sat. Al %	4,376	8,363	27,405
Cu mg / dm <sup>3</sup>	0,423	0,414	0,468
Fe mg / dm <sup>3</sup>	19,855	14,985	17,805
Mn mg / dm <sup>3</sup>	3,325	1,54	1,246
Zn mg / dm <sup>3</sup>	0,247	0	0

Para análise bioquímica das sementes, os carboidratos foram quantificados por metodologia proposta por Thompson (1990), extrato etéreo e proteína por metodologia proposta por Brasil (2009) e ácidos graxos por metodologia proposta por A.O.A.C. (2005).

Amostra das sementes foram moídas em moinho tipo Wiley, passadas em peneira de 0,5 mm, e submetidas à digestão nitroperclórica. O P foi determinado por colorimetria, K por fotometria de emissão de chama, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica, N por titulação após a digestão pelo método de Kjeldahl e S por turbidimetria, (Alvarez et al., 2001).



**Figura 02:** Banco de sementes de *C. argentea*. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG. Fotografia: Eduardo Mattar

## 2. Doses e quantidade de material aderido às sementes:

As sementes de cratília foram recobertas com as doses: 0, 1,25, 2,5, 5, 7,5 e 10 g de superfosfato triplo por 100 sementes. As doses foram estabelecidas considerando estimativa de massa seca em 45 dias pós germinação e o nível crítico interno de fósforo para a espécie, a partir dos trabalhos de Xavier et al. (1996, 1997).

O recobrimento foi efetuado com uso de cola FTA (Voss e Benvegnú, 2008), 1 mL para 100 sementes. O fertilizante foi moído manualmente em almofariz e peneirado (60 mesh). Vale destacar que cada 100 sementes desta espécie possuem aproximadamente 25.98 g.

Em 3 repetições, procedeu-se a mistura do fertilizante, da cola e das sementes. Este processo foi realizado em potes de plástico e, tanto antes como após, foram aferidas as massas das sementes e dos recipientes utilizados; com objetivo de se determinar a quantidade de material aderido às sementes.

### *3. Qualidade fisiológica das sementes em função do recobrimento das sementes com superfosfato triplo*

Como não houve diferença entre a quantidade de material aderido nas sementes ao se utilizar as duas maiores doses, excluiu-se a dose de 10 g de superfosfato triplo por 100 sementes dos testes de avaliação. Testes realizados:

#### *3.1. Germinação*

Foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes para cada dose, número recomendado para estudos com sementes de espécies nativas.

O teste foi conduzido em substrato de papel toalha em forma de rolo (Brasil, 2009). Os rolos foram acondicionados em câmara de germinação (tipo Mangelsdorf) a 25°C. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições.

Parâmetros avaliados:

##### *3.1.1. Porcentagem de germinação*

As avaliações foram realizadas diariamente até a estabilização da germinação sendo determinadas as porcentagens plântulas normais, plântulas anormais, sementes mortas e sementes duras. Houve aplicação semanal do fungicida CAPTAN (0,2%), aspergida sobre as sementes, e no 15º dia após implantação do teste, os papéis foram trocados.

##### *3.1.2. Índice de velocidade de germinação (IVG) e Velocidade de germinação (VG)*

O índice de velocidade de germinação e a velocidade de germinação das plântulas foram calculados seguindo fórmulas proposta por: Maguire (1962) e Edmond & Drapala (1958), respectivamente.

#### *3.2. Envelhecimento acelerado*

As sementes foram acondicionadas sobre tela de metal suspensa e acoplada em caixas de plástico (gerbox) contendo, ao fundo, 40 mL de água. As caixas foram tampadas e mantidas em incubadora tipo BOD regulada a 45°C, por 24 h, seguindo metodologia proposta por Marcos Filho (2005). Após este período,

as sementes, em cinco repetições de 20, foram submetidas ao teste de germinação conforme descrito no item “2.1. Germinação”. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições. Foram avaliados os mesmos parâmetros do item “2.1. Germinação”

### *3.3. Emergência em areia*

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes que foram distribuídas individualmente em células de bandejas de polietileno contendo areia lavada e autoclavada (Figura 03). Diariamente, foram contabilizadas plântulas normais e anormais, até 49º dia após semeadura, quando houve estabilização na emergência de plântulas. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições.



**Figura 03:** Ensaio com o teste de emergência em areia. Uso de células individuais para cada semente.

Parâmetros avaliados:

#### *3.3.1. Índice de velocidade de emergência (IVE) e Velocidade de emergência (VE)*

O índice de velocidade de emergência e a velocidade de emergência das plântulas foram calculados seguindo fórmulas proposta por: Maguire (1962) e Edmond & Drapala (1958), respectivamente.

#### *3.3.2. Comprimento, área projetada, área de superfície e volume das raízes das plântulas*

Estes parâmetros foram calculados utilizando-se as raízes das plântulas coletadas ao final do teste de emergência em areia, através do sistema de análise de imagem WinRHIZO. O sistema mensurou o comprimento total da raiz (cm de

raiz / plântula), a área projetada da raiz ( $\text{cm}^2$  de raiz / plântula), a área total de superfície da raiz ( $\text{cm}^2$  de raiz / plântula) e o volume da raiz foram expressos ( $\text{cm}^3$  de raiz / plântula) a partir de imagens das raízes geradas por *scanner* (Figura 04).



**Figura 04:** Aferição de parâmetros das raízes de plântulas de cratília através do sistema de análise de imagem WinRHIZO.

### *3.3.3. Matéria seca da parte aérea e da raiz das plântulas*

As partes aéreas e da raiz das plântulas obtidas no teste de emergência em areia foram acondicionadas em sacos de papel e secadas em estufa termoelétrica, com circulação de ar forçado, à temperatura de  $65^\circ \text{C}$  por 72 h. Após esfriar em dessecador, cada repetição de 25 plântulas, foi pesada em balança de precisão. Os resultados foram expressos em  $\text{mg}$  / plântula.

### *3.3.4. Comprimento da raiz principal e parte aérea*

A altura da parte aérea e o comprimento da raiz principal foram aferidos para cada plântula com uso de paquímetro. Os resultados foram expressos em  $\text{cm}$  / plântula.

## *4. Material visual para apoio na classificação de plântulas*

Durante a avaliação dos testes de germinação e envelhecimento acelerado, as plântulas normais e anormais foram fotografadas para elaboração de material visual de apoio à identificação e caracterização de plântulas da espécie, tendo como referência Brasil (2009).

5. *Desenvolvimento inicial e aspectos vinculados as trocas gasosas e fluorescência em função do recobrimento de sementes com superfosfato triplo*

O ensaio foi conduzido durante 75 dias, entre outubro e dezembro de 2014, em casa de vegetação sem ambiente controlado e em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições seguindo esquema fatorial “2 x 2”: duas condições de solo, com (CP) e sem adubação fosfatada (SP) e; dois tratamentos de sementes, com (CR) e sem recobrimento (SR) com superfosfato triplo (1,25 g de adubo para 100 sementes).

A semeadura foi realizada em vasos plásticos contendo 5 dm<sup>3</sup> de solo classificado como Latossolo Vermelho - Amarelo. O solo foi corrigido e adubado para elevar o nível de nutrientes para: N (100 mg/dm<sup>3</sup>), P (300 mg/dm<sup>3</sup>), K (150 mg/dm<sup>3</sup>), S (40 mg/dm<sup>3</sup>), B (0,81 mg/dm<sup>3</sup>), Cu (1,33 mg/dm<sup>3</sup>), Fe (1,55 mg/dm<sup>3</sup>), Mn (3,66 mg/dm<sup>3</sup>), Mo (0,15 mg/dm<sup>3</sup>) e Zn (4,0 mg/dm<sup>3</sup>); seguindo a recomendação de Novais et al (1991).

Parâmetros avaliados:

5.1. *Número de nós, número de folhas e altura da planta*

Aos 75 dias após a semeadura foram coletados para todas as plantas de cada tratamento, os parâmetros: altura da planta (cm / planta), número de nós por planta e número de folhas por planta. A altura da planta foi aferida por fita métrica a partir do ponto de inserção das folhas cotiledonares.

5.2. *Matéria seca da raiz e da parte aérea*

A parte aérea e a raiz, para todas as plantas de cada tratamento, foram acondicionadas em sacos de papel e secadas em estufa termoeletrica, com circulação de ar forçado, em temperatura de 65° C por 72 h. Em seguida, foram pesadas em balança de precisão e expressas em g / planta.

5.3. *Comprimento, área projetada, área de superfície e volume das raízes das plantas*

Estes parâmetros foram determinados a partir de raízes de 5 plantas de cada tratamento, coletadas ao final do ensaio. Foi adotada mesma metodologia

descrita no item “2.3.2. Comprimento, área projetada, área de superfície e volume das raízes das plântulas”

#### 5.4. Posição dos estômatos

Aos 75 dias após a semeadura, a avaliação da posição estomática na folha foi realizada através análise de película de esmalte incolor (Von Groll et al., 2002) copiada de moldes de resina dental (Berger e Altmann, 2000) coletadas das faces abaxiais e adaxiais das 4<sup>as</sup> folhas totalmente expandidas, em 5 plantas do tratamento com adubação fosfatada e sem recobrimento de sementes (SRCP), que representou uma condição normal para o desenvolvimento das plantas. Imagens foram registradas em câmera digital acoplada em microscópio óptico. Em seguida, foram analisadas as presenças dos estômatos nas faces abaxiais e adaxiais.

#### 5.5. Trocas gasosas em função de períodos do dia

Os parâmetros de trocas gasosas foram aferidos aos 75 dias após a semeadura, com o analisador de gases a infravermelho em sistema aberto (IRGA – Infrared Gas Analyzer), modelo LI 6400XT (LI-COR, Lincoln, NE, EUA) sob radiação fotossinteticamente ativa artificial de 1000  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e concentração de  $\text{CO}_2$  de 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ .

As informações foram determinadas para 5 plantas do tratamento com adubação fosfatada e sem recobrimento de sementes (SR CP). A taxa de fotossíntese líquida ( $A_N$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a transpiração (E) foram aferidas em 3 períodos do dia: 9:00 horas (manhã), 12:00 horas (meio dia) e 15:horas (tarde).

#### 5.6. Fotossíntese líquida em função da luz

O parâmetro fotossíntese líquida ( $A_N$ ) foi aferido aos 75 dias após a semeadura, com o analisador de gases a infravermelho em sistema aberto (IRGA – Infrared Gas Analyzer), modelo LI 6400XT (LI-COR, Lincoln, NE, EUA) sob concentração de  $\text{CO}_2$  de 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ .

A informação foi determinada para 5 plantas do tratamento com adubação fosfatada e sem recobrimento de sementes (SR CP), no período da manhã. A taxa de fotossíntese líquida ( $A_N$ ) foi aferida e relacionada com as radiações

fotossinteticamente ativas (RFA) de: 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1800  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### 5.7. Fluorescência da clorofila a

A fluorescência da clorofila a foi avaliada utilizando-se do fluorômetro integrado à câmara do analisador de gases a infravermelho (LI-6400, Li-Cor Inc., NE, EUA), equipado com uma fonte de luz azul/vermelho modelo LI-6400-02B (LI-COR). A noite (00:00 horas), após os tecidos foliares estarem adaptados ao escuro, foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz vermelho-distante ( $0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para a determinação da fluorescência inicial ( $F_0$ ). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de  $6000 \mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e duração de 0,8 s, foi aplicado para estimar a fluorescência máxima emitida ( $F_m$ ). Foi realizada, ainda, a estimação da eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) (DaMatta et al., 2002)

### 5.8. Densidade estomática

A estimativa da densidade estomática foi realizada através análise de película de esmalte incolor (Von Groll et al., 2002) copiada de moldes de resina dental (Berger e Altmann, 2000) coletadas das faces abaxiais das 4<sup>a</sup> folhas totalmente expandidas, em 3 plantas de cada tratamento. Imagens foram registradas em câmera digital acoplada em microscópio óptico. A densidade foi determinada através do *software* Image – Pro Plus.

## 6. Avaliação da eficiência de inoculantes

A eficiência de inoculantes foi avaliada a partir de ensaios conduzidos em casa de vegetação, seguindo método proposto por Brasil (2011). As sementes de *C. argentea* passaram por desinfecção por 10 minutos em hipoclorito de sódio (5%) e em seqüência, 10 lavagens sucessivas com água destilada e autoclavada. Foram pré germinadas no período de uma semana em câmara de germinação regulada a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e posteriormente semeadas em vasos Leonard (Figura 05), fabricados com garrafas PET de 2,5 L, conforme (Santos et al., 2009), e contendo substrato de areia e vermiculita (2:1; v:v) esterilizado em autoclave. Semanalmente os vasos receberam 0,5 L de solução nutritiva de Norris (Norris & Date, 1976) e irrigação com água destilada autoclavada quando necessário.



**Figura 05:** Plantas cultivadas de cratílica em vasos Leonard

Foram testados seis inoculantes turfosos com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium sp.* de (Figura 06) fornecidos pela Embrapa Agrobiologia: CR 33 (BR10243), CR52 (BR10257), CR42 (BR10244), CEPAC-B10, SEMIA 6464 (BR3262) e SEMIA 6462 (BR3267). Os três primeiros inoculantes possuem estirpes isoladas de plantas de *C. argentea*, as duas últimas estirpes recomendadas para a espécie *Vigna unguiculata* (feijão caupi) e o “CEPAC-B10”, estirpe recomendada para diversos adubos verdes. Utilizou-se 5 repetições para cada tratamento: com 1 mL de inoculante por plântula e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e sem inoculante com adubação nitrogenada (CN). Os inoculantes foram aplicados no plantio junto com as plântulas e, para adubação nitrogenada, foram aplicados 0,10 g de nitrato de amônio nas duas primeiras semanas e 0,20 g nas semanas subsequentes.

Aos 150 dias após o plantio, plantas de *C. argentea* foram coletadas e separadas em raízes e parte aérea, na altura da inserção do nó cotiledonar. Procedeu-se contagem dos nódulos e secagem em estufa de circulação de ar forçado (60°C por 72h) dos nódulos e da parte aérea. Em seqüência ocorreu aferição da matéria seca da parte aérea e matéria seca dos nódulos e, os teores de N-total e de proteína bruta para a parte aérea de cada tratamento. O N-total foi determinado por titulação após a digestão pelo método de Kjeldahl e o teor de proteína bruta foi calculado utilizando o fator de conversão de 6,25, conforme Galvani e Gaertner (2006). Em caso de nodulação, a eficiência nodular foi calculada seguindo fórmula proposta por Brasil (2011)..

Para avaliação da eficiência dos inoculantes “SEMIA 6464” e “SEMIA 6462” utilizou-se tratamento adicional contendo *V. unguiculata* com inoculante e sem adubação de N, colhido 50 dias após plantio. Para avaliação do “CEPAC-

B10”, utilizou-se tratamento adicional contendo *Crotalaria spectabilis* com inoculante e sem adubação de N, colhida 75 dias após o plantio. Especificamente para os tratamentos de *C. spectabilis* e *V. unguiculata* somente foram avaliados: a presença de nódulos no sistema radicular e teor de N da parte aérea



**Figura 06:** Inoculantes turfosos com estirpes de *Bradyrhizobium*

Os ensaios com os inoculantes SEMIA 6464 e SEMIA 6462 foram conduzidos em casa de vegetação não climatizada, entre março e agosto de 2014. Já os ensaios com os demais inoculantes foram conduzidos em casa de vegetação climatizada e regulada em temperatura de 25° C, entre julho e dezembro de 2014. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições para cada tratamento, em ensaios conduzidos separadamente para cada inoculante a fim de se evitar contaminação.

#### 7. *Desenvolvimento das plantas inoculadas e efeito da nodulação em funções do tempo*

A partir dos 70 dias após o plantio até 145 dias após o plantio, foram determinados quinzenalmente, os parâmetros: altura da planta (cm / planta), número de nós e número de folhas para os tratamentos contidos no item “5. Avaliação da eficiência de inoculantes”. A altura de plantas foi aferida a partir da inserção do nó cotiledonar.

#### 8. *Análise estatística*

Os dados de todas as variáveis avaliadas foram submetidos à análise de variância. Em seguida, foi aplicado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para a comparação entre as médias dos tratamentos. Para os fatores quantitativos, procedeu-se análise de regressão visando avaliar a relação funcional entre a variável independente e a variável resposta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Composição bioquímica e nutricional do lote de sementes*

As sementes de *C. argentea* acumulam predominantemente como reservas o amido e proteínas, contendo baixa porcentagem de lipídios. Neste enfoque são classificadas como aleuro-amiláceas, seguindo o padrão geral das leguminosas (Marcos Filho, 2005). A principal estrutura de armazenamento são os cotilédones, característica comum em dicotiledôneas.

A quantidade baixa de lipídios na composição química das sementes de *C. argentea* é um ponto favorável em relação à longevidade, considerando que segundo Marcos Filho (2005) estes compostos possuem menor estabilidade química em comparação ao amido. Contudo, a alta concentração de proteínas merece atenção especial, tendo em vista que o mesmo trabalho descreve que estes compostos possuem elevada afinidade com a água, fator que contribui para redução do potencial de armazenamento. Resultado condizente com o trabalho de Ramos et al. (2003), que relata potencial satisfatório de armazenamento sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar.

As Tabelas 02 e 03 descrevem respectivamente a composição bioquímica e nutricional do lote de sementes de *C. argentea*. Sua composição bioquímica é semelhante à composição da ervilha, que apresenta quantidade similar de proteínas e baixa porcentagem de lipídios (Marcos Filho, 2005)

**Tabela 02:** Composição bioquímica de sementes de *C. argentea*:

Análise	Unidade	Resultado
Proteína Bruta	%	26,45
Extrato Etéreo	%	0,74
Amido	%	22,67
Ác. Palmítico (C16:0)	%	0,07
Ác. Esteárico (C18:0)	%	0,02
Ác. Oléico (C18:1n9c)	%	0,11
Ác. Linolêico (C18:2n6c)	%	0,21
Ác. Linolênico (C18:3n3)	%	0,12
Gorduras Poli-Insaturadas	%	0,33
Gorduras Trans	%	0,00

Gorduras Monoinsaturadas	%	0,11
Gorduras Saturadas	%	0,12
Gorduras Insaturadas	%	0,44
Frutose	mg/Kg	<50,00
Rafinose	mg/Kg	<50,00
Maltose	%	<50,00
Glicose Livre	%	0,06
Lactose	mg/Kg	<50,00
Glicídios Totais	%	41,46
Fucose	mg/Kg	<50,00
Arabinose	mg/Kg	<50,00
Galactose	%	2,72
Glicose	%	31,17
Xilose	%	1,71
Rhamnose	%	5,86
Manose	mg/Kg	<50,00
Sacarose	%	1,00
Frutose livre	%	0,01
Ácido Butírico (C4:0)	%	0,02

Os resultados de carboidratos expressos como <50,00 estão abaixo do limite de quantificação.

**Tabela 03:** Composição nutricional de sementes de *C. argentea*.

Macronutrientes (dag/kg)					
N	P	K	Ca	Mg	S
5,595	0,388	0,566	0,130	0,189	0,216
Micronutrientes (mg/kg)					
Cu	Fe	Zn	Mn	B	
9,900	58,800	39,950	25,300	9,071	

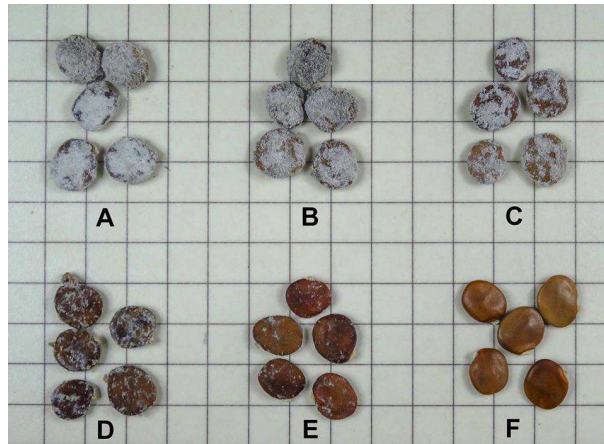
#### *Doses e recobrimento*

A Tabela 04 descreve a quantidade de material aderido nas sementes durante a execução do trabalho.

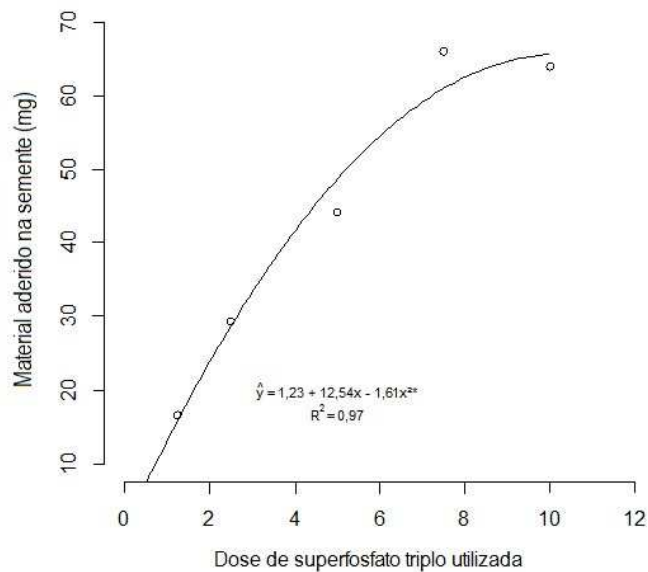
Na Figura 08, a reta da regressão demonstra a tendência de maior acúmulo de material aderido em relação ao aumento da dose utilizada e sugere que, a partir da dose de 7,5 g de superfosfato triplo por 100 sementes, ocorre uma estabilização na adesão do material. Vale ressaltar que a dose de 7,5 g de superfosfato triplo por 100 sementes foi suficiente para recobrir toda a semente com o fertilizante (Figura 07).

**Tabela 04:** Material aderido (cola FTA+ adubo) na semente para as doses utilizadas em cada teste.

Dose	Material aderido (cola FTA + adubo)	
	mg / semente	
		16,12
1,25		16,49
		17,11
Média		16.57
		29,79
2,5		29,02
		29,31
Média		29.37
		37,40
5,0		42,00
		53,32
Média		44.24
		67,13
7,5		65,43
		65,46
Média		66,00
		63,82
10,0		65,77
		62,21
Média		63,93



**Figura 07:** Sementes com diferentes condições de recobrimento. (A) Dose de 10 g por 100 sementes, (B) Dose de 7,5 g por 100 sementes, (C) Dose de 5 g por 100 sementes, (D) Dose de 2,5 g por 100 sementes (E) Dose de 1,25 g por 100 sementes e (F) sem recobrimento. Fotografia: Eduardo Mattar / Arte e tratamento da imagem: Paulo Hilst.

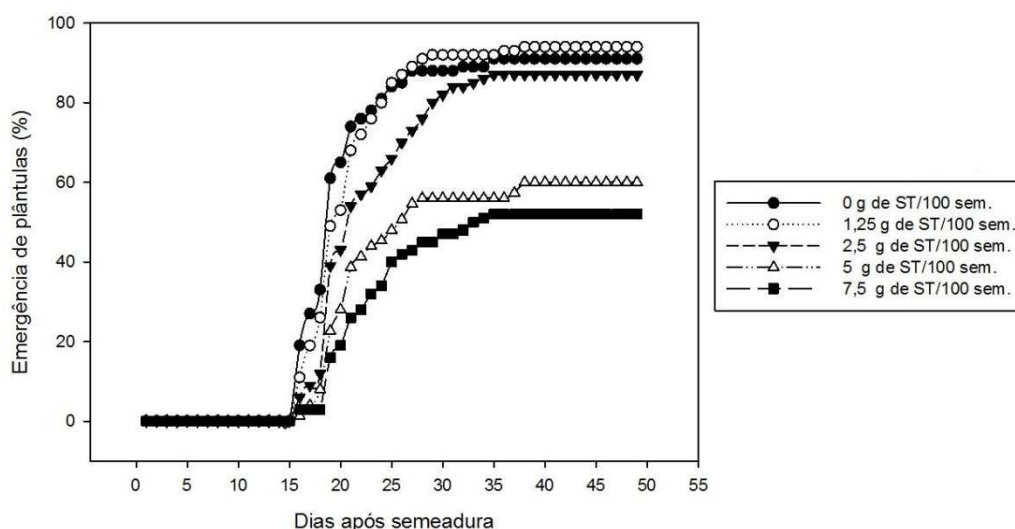


**Figura 08:** Relação entre material aderido às sementes de cratília e doses de superfosfato triplo.

## Avaliação da germinação e vigor das sementes em função do recobrimento com adubo fosfatado

A taxa de germinação das sementes apresentou-se satisfatória, com 89%; resultado similar ao encontrado por: Fava (2008), Bárcenas et al (2009) e Ramos et al (2003).

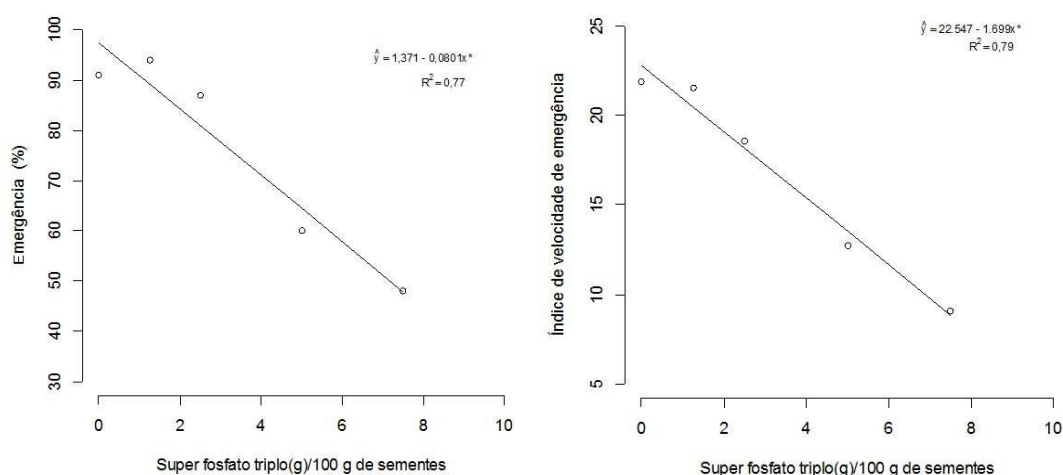
O uso de recobrimento de sementes com superfosfato triplo influenciou negativamente a germinação e o vigor das sementes na espécie *C. argentea*. No teste de emergência em areia, as curvas de emergência de plântulas normais em função do tempo foram semelhantes entre o tratamento contendo a menor dose (1,25 g / 100 sementes) e o tratamento contendo as sementes sem o recobrimento (Figura 09)



**Figura 09:** Curva de emergência de plântulas normais durante o teste de emergência em areia em resposta às diferentes doses de superfosfato triplo utilizadas no recobrimento das sementes de cratília.

A taxa de emergência e o índice de velocidade de emergência (IVE) decresceram com o aumento das doses utilizadas na técnica de recobrimento (Figura 10), resultados que indicam uma perda de vigor nas sementes recobertas. Levien (2010) descreve dano mais acentuado na emergência de plântulas de soja com uso super fosfato triplo em dosagem inferior à esta utilizada, situação que pode ser justificada por característica da espécie ou qualidade do adubo utilizado. Para a cultura da soja, o uso de recobrimento com fosfato de sódio monobásico na

dose 0.6 a 0.8 g por 100 g de sementes resultou em aumento da germinação e vigor, com melhoria na porcentagem de emergência e IVE (Soares, 2009). Em milho, revestimento de sementes com superfosfato simples trifosfato de sódio, na dose de 0,5 mg P por semente, reduziram em 50% a emergência e, não houve emergência para a dose de 5,0 mg P por semente (Rebafka et al, 1993)



**Figura 10:** Porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de cratília em função das doses utilizadas.

A matéria seca da parte aérea, a matéria seca da raiz, a velocidade de emergência (VE), a altura da parte aérea, a profundidade da raiz, o comprimento total da raiz, a área de projeção da raiz, a área de superfície da raiz e o volume total da raiz; não apresentaram diferenças significativas com o aumento das doses utilizadas no recobrimento (Tabela 05).

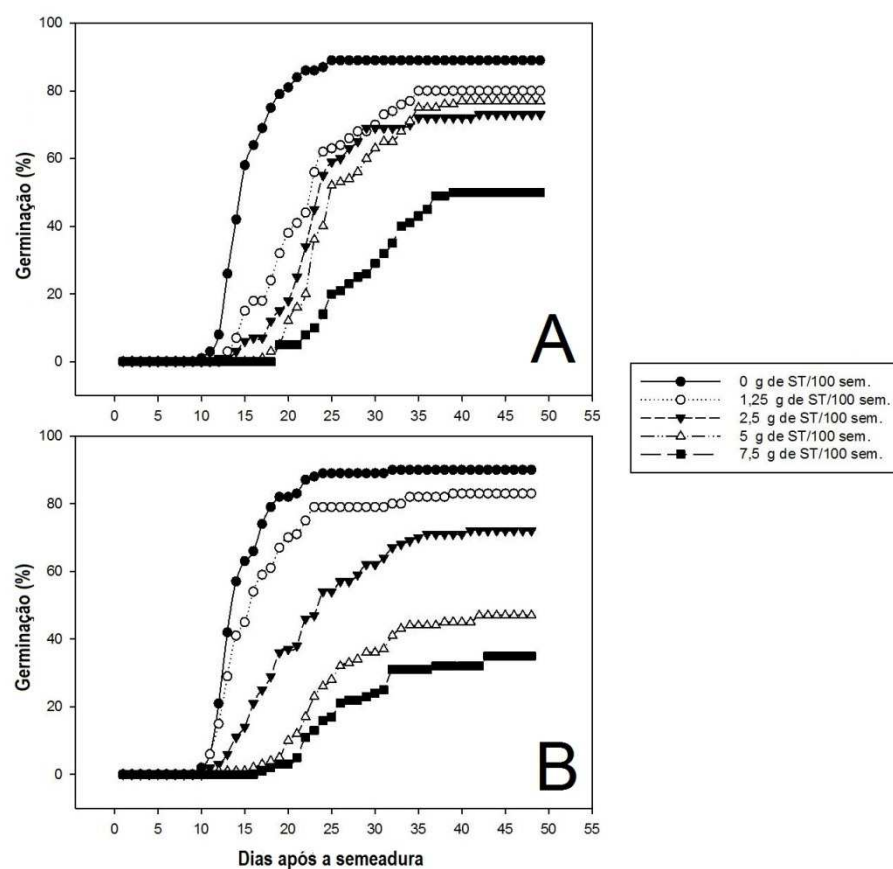
**Tabela 05:** Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 11 variáveis avaliadas no teste de emergência de plântulas em areia. Porcentagem de emergência de plântulas (E), comprimento da raiz principal (CRP), comprimento da parte aérea (CPA), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), índice de velocidade de emergência (IVE), velocidade de emergência (VE), comprimento total da raiz (CR), área de projeção da raiz (APR), área de superfície da raiz (ASR) e volume da raiz (VR). CRP (cm / plântula), CPA (cm / plântula), MSPA (mg / plantula), MSR (mg / plântula), CR (cm de raiz / plântula), APR (cm<sup>2</sup> de raiz / plântula), ASR (cm<sup>2</sup> de raiz / plântula) e VR (cm<sup>3</sup> de raiz / plântula).

FV	GL	Quadrado Médio										
		E	CRP	CPA	MSPA	MSR	IVE	VE	CR	APR	ASR	VR
DOSE	4	0,2468*	0,053 <sup>ns</sup>	0,112 <sup>ns</sup>	1572,329 <sup>ns</sup>	80,712 <sup>ns</sup>	108,014*	2,516 <sup>ns</sup>	458,812 <sup>ns</sup>	4,224 <sup>ns</sup>	41,686 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>
RESIDUO	15	0,0146	0,451	0,507	672,398	84,972	5,805	1,218	1805,408	4,313	42,569	0.0000
CV %		10,89	8,142	13,856	23,088	22,215	14,135	3,142	28,963	28,823	28,823	29,084
MÉDIA GERAL		79.2	8,254	5,141	112,310	41,493	17,044	35,124	146,701	7,205	22,636	0,0270

\*significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>ns</sup>não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Nos testes de germinação e envelhecimento acelerado, ambos conduzidos em substrato de papel, as curvas de formação de plântulas ilustram prejuízos mais acentuados na germinação e vigor das sementes recobertas quando comparados aos resultados do teste de emergência de areia. Nestes dois, nem mesmo o tratamento contendo a menor dose (1,25 g / 100 sementes) apresentou tendência semelhante aos tratamentos com as sementes não recobertas (Figura 11). Este fato pode estar associado a um maior acúmulo de sais no substrato de papel.

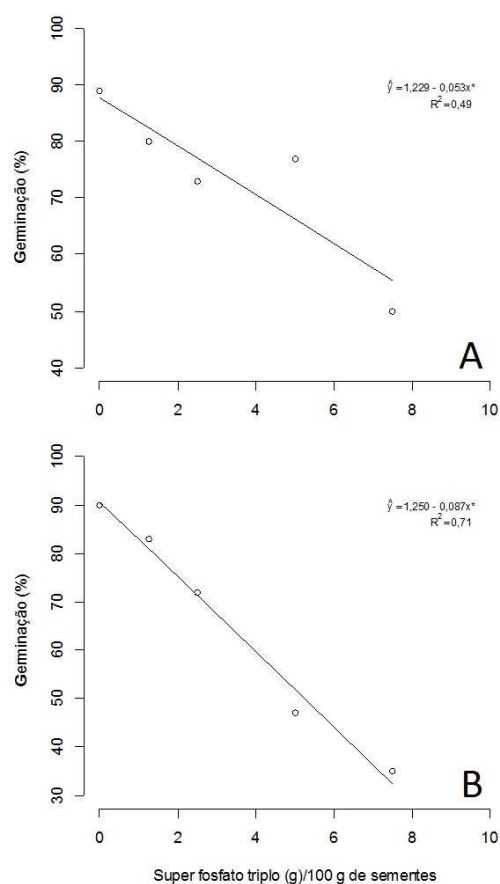
Não houve diferenças significativas entre as sementes não recobertas submetidas aos testes de germinação e de envelhecimento acelerado, situação que poderia ser justificada considerando dois aspectos: o tempo de envelhecimento acelerado utilizado foi insuficiente para promover deterioração nas sementes e/ou as sementes apresentavam-se bastante vigorosas. Vale destacar que não existe metodologia indicada para condução do teste de germinação e de envelhecimento acelerado para a espécie publicada no documento “Regras para análise de Sementes (RAS)” do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.



**Figura 11:** Curva de formação de plântulas normais em resposta às diferentes

doses de superfosfato triplo utilizadas no recobrimento de sementes de cratília. (A) Teste de germinação; (B) Teste de envelhecimento acelerado.

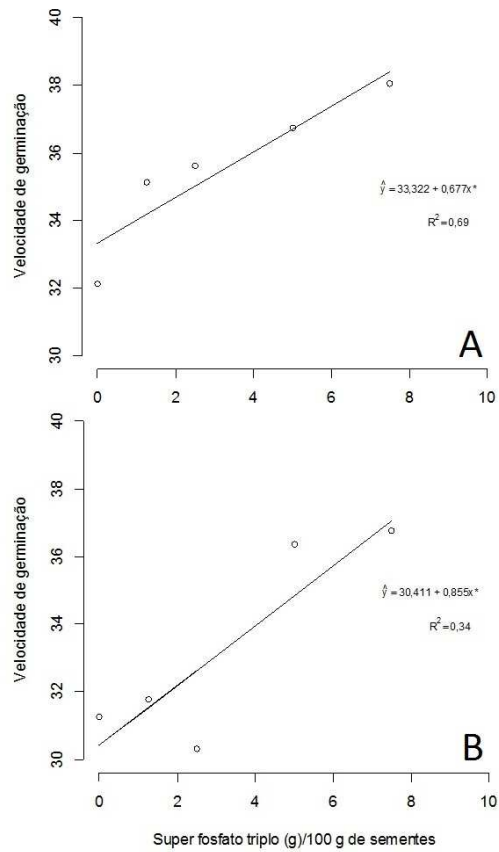
A porcentagem de germinação foi prejudicada pelo uso da técnica de recobrimento, sendo mais afetada em função o incremento da quantidade de material aderido nas sementes (Figura 12, Tabelas 6 e 7).



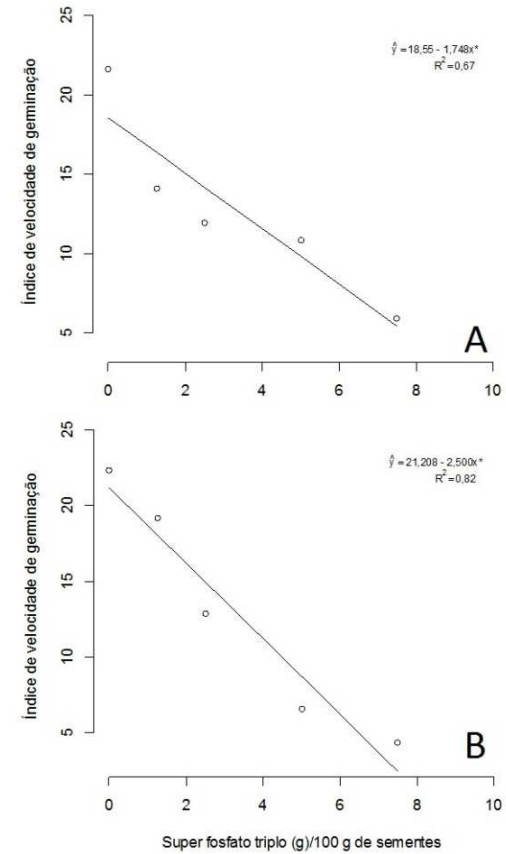
**Figura 12:** Germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado.

Com o aumento na dose de superfosfato triplo, o índice de velocidade de germinação (IVG) e a velocidade de germinação (VG) sofreram, respectivamente: redução e incremento (Figuras 13 e 14; Tabelas 6 e 7), situação que indica redução no vigor das sementes recobertas com o referido fertilizante, tendo em

vista que o IVG e VG exprimem o número médio de sementes germinadas por dia e os dias necessários para germinação.



**Figura 13:** Velocidade de germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado.



**Figura 14:** Índice de velocidade de germinação de sementes de cratília em relação as doses de superfosfato triplo. (A) Teste de germinação (B) Teste de envelhecimento acelerado.

**Tabela 06:** Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 3 variáveis avaliadas no teste de germinação. Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e velocidade de germinação (VG).

FV	GL	Quadrado Médio		
		G	IVG	VG
DOSE	4	0,155*	164,85*	24,39*
RESIDUO	20	0,02	8,22	1,14
CV %		13,50	22,27	3,00
MÉDIA GERAL		73,80	12,87	35,52

\*significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 07:** Quadrados médios obtidos na análise de variância, coeficientes de variação experimental (CV %) e média geral para as 3 variáveis avaliadas no teste de envelhecimento acelerado.

FV	GL	Quadrado Médio		
		G	IVG	VG
DOSE	4	0,35*	302,46*	46,07*
RESIDUO	20	0,02	8,261	11,13
CV %		17,04	22,02	10,02
MÉDIA GERAL		62,83	12,17	33,28

\*significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

O uso de superfosfato triplo afetou negativamente o desempenho das sementes de *C. argentea*, resultado condizente ao trabalho de Levien (2010), que descreveu que as emergências das plântulas de soja foram afetadas negativamente com o uso de fosfato de sódio, superfosfato triplo e fosfato monoamônico recobertos em sementes e, inclusive indicou que os dois últimos adubos possivelmente possuem fitoxidez para as sementes de soja.

#### *Material visual para apoio na classificação de plântulas*

As Figuras 15 e 16 ilustram plântulas anormais e normais obtidas no teste de germinação de sementes de *C. argentea*, respectivamente. A germinação foi classificada como hipógea, assim como mencionado por Ramos et al (2003). A plântula normal é constituída de raiz primária, apresentando o surgimento de raízes secundárias, hipocótilo ereto ou apresentando leve curvatura, com duas folhas primárias na extremidade superior (Figura 16).



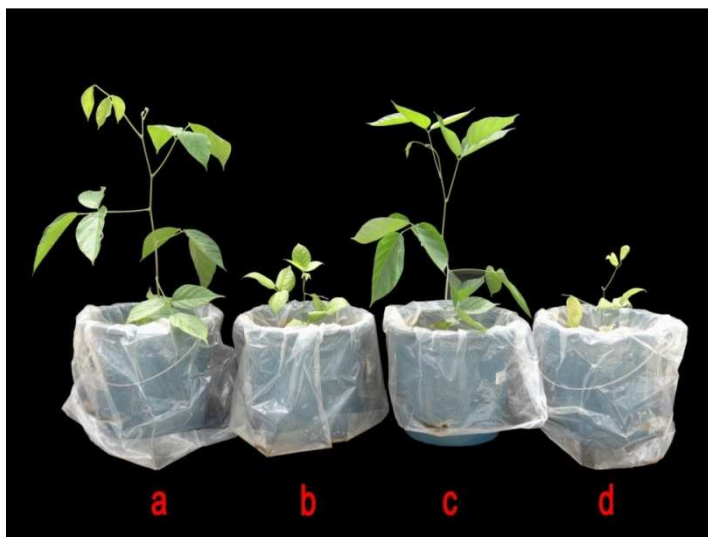
**Figura 15:** Plantas anormais de cratília (a, c, e) Plântulas com sistema radicular pouco desenvolvido (b, f) Plântulas com sistema radicular danificado (d) Plântula com má formação do sistema radicular e parte aérea. Fotografia: Eduardo Mattar / Arte e tratamento da imagem: Paulo Hilst.



**Figura 16:** Plantas normais de cratília (a, b, c) Plântulas normais (d) Plântula com curva no hipocótilo, contudo resultará em uma planta normal (e, f) Plântulas com desenvolvimento radicular moderadamente mais lento, contudo resultarão em plantas normais. Fotografia: Eduardo Mattar / Arte e tratamento da imagem: Paulo Hilst.

*Desenvolvimento das plantas com e sem recobrimento de sementes com superfosfato triplo:*

Na condição de solo sem adubação fosfatada, os parâmetros número de nós, altura, razão parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz não apresentaram diferenças entre os tratamentos com e sem recobrimento das sementes. Contudo, o número de folhas foi superior no tratamento com recobrimento das sementes. Já na condição de solo com adubação fosfatada, não houve diferença entre os tratamentos com e sem recobrimento para estes parâmetros (Figuras 17 e Tabela 22).



**Figura 17:** Plantas de *C. argentea* aos 75 dias após o plantio. (a) com recobrimento e com adubação fosfatada - CRCP; (b) com recobrimento e sem adubação fosfatada - CRSP; (c) sem recobrimento com adubação fosfatada - SRCP; (d) sem recobrimento e sem adubação fosfatada - SRSP.

No tocante ao desenvolvimento radicular não houve diferenças significativas entre os tratamentos com e sem recobrimento de sementes com superfosfato triplo nas duas condições de solo analisadas. Os parâmetros comprimento total da raiz, área de projeção da raiz, superfície total da raiz e volume total da raiz (Tabela 08) foram incrementados com o uso da técnica de recobrimento e, principalmente, com o uso de solo adubado com P; entretanto, os tratamentos com e sem recobrimento não apresentaram diferenças significativas nas duas condições de solo.

**Tabela 08:** Média das variáveis: relação da parte aérea e raiz (RPAR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), comprimento total da raiz (CR), área projetada pela raiz (APR), superfície total da raiz (SR) e volume total da raiz (VR), número de nós, número de folhas e altura, após 75 dias após o plantio, em 4 tratamentos: com recobrimento das sementes de superfosfato triplo e com adubação fosfatada (CRCP), sem recobrimento das sementes de superfosfato triplo e com adubação fosfatada (SRCP), com recobrimento das sementes de superfosfato triplo e sem adubação fosfatada (CRSP) e sem recobrimento das sementes de superfosfato triplo e sem adubação fosfatada (SRSP). MSPA (g), MSR (g), CR (cm), APR (cm<sup>2</sup>), SR (cm<sup>2</sup>), VR (cm<sup>3</sup>) e altura (cm).

Tratamento	RPAR	MSPA	MSR	CR	APR	SR	VR	Número de Nós	Número de Folhas	Altura
CR CP	6.24 a	4,90 a	0,89 a	1429,6 a	75,00 a	235,62 a	0,306 a	7,7 a	7,7 a	37,58 a
SR CP	6.74 a	4,59 a	0,74 a	1105,1 ab	59,91 ab	188,21 ab	0,256 ab	7,7 a	7,7 a	33,82 a
CR SP	3.58 b	1,07 b	0,32 b	985,1 ab	47,70 ab	149,87ab	0,178 ab	5,0 b	4,6 b	15,05 b
SR SP	2.80 b	0,72 b	0,30 b	692,5 b	30,92 b	97,14 b	0,106 b	3,9 b	3,2 c	11,67 b
CV (%)	35.81	30,75	46,62	26,89	36,88	36,88	49,23	18,42	19,1	29,8

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (p< 0,05).

Para respiração noturna, não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Para taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, relação Fv / Fm e densidade estomática; o recobrimento não resultou em benefícios satisfatórios nas duas condições de solo (Tabela 09).

As relações Fv/Fm, para as plantas crescidas em condições adequadas de adubação (CRCP e SRCP) apresentaram-se mais próximas do valor de referência de 0.830, encontrado por Björkman & Adams (1987) em folhas sadias de diversas dicotiledôneas. Em condições de solo sem adubação com P, os valores foram reduzidos, fato que indica dano foto inibitório pela deficiência deste nutriente.

**Tabela 09:** Média das variáveis fotossíntese líquida (A<sub>N</sub>), respiração noturna (R), relação Fv / Fm e densidade estomática (DE). A<sub>N</sub> (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), R (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e DE (Un. / mm<sup>2</sup>)

Tratamento	A <sub>N</sub>	R	Fv / Fm	DE
CR CP	12,24 a	1,216 a	0,771 a	183.99 a
SR CP	11,39 a	1,356 a	0,759 ab	170.43 ab
CR SP	3,32 b	1,226 a	0,588 bc	133.69 ab
SR SP	1,71 b	0,738 a	0,512 c	112.8 b
CV (%)	20,47	37,7	14.96	17.54

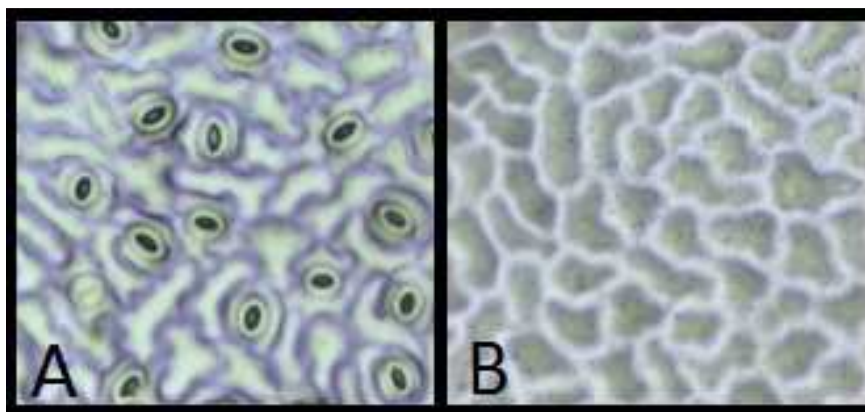
Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (p< 0,05).

Os resultados indicam que a técnica de recobrimento com superfosfato triplo não é recomendada para a espécie *C. argentea*, tendo em vista que não resultou em benefícios significativos para o desenvolvimento das plantas nas duas condições de solo.

#### *Posição dos estômatos*

Apesar de *C. argentea* ser a única espécie do gênero com ocorrência na região Amazônica (Queiroz, 1991), onde umidade é elevada; as plantas avaliadas somente apresentaram estômatos na face abaxial da folha, sendo portanto classificadas como hipoestomáticas (Figura 18). Este fato pode provavelmente

estar associado à história evolutiva da espécie, considerando que o mesmo trabalho (Queiroz, 1991) menciona a hipótese de origem das plantas deste gênero em habitats savânicos e ocupação principalmente em ambientes secos. Situação comum em plantas do cerrado brasileiro (Rossatto et al., 2009)



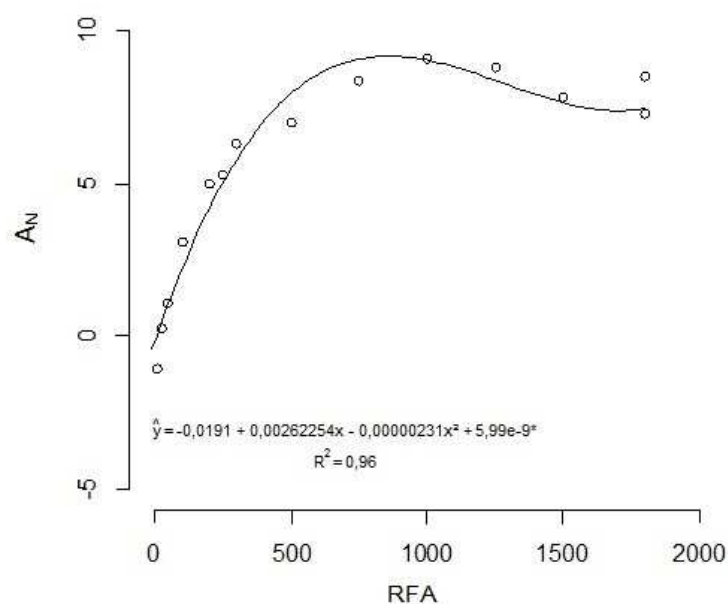
**Figura 18:** (A) Face abaxial da epiderme foliar (B) Face adaxial da epiderme foliar, ilustrando que a *C. argentea* é uma planta hipoestomática.

#### *Informações sobre fotossíntese*

Para *C. argentea*, as maiores taxas de fotossíntese ocorreram na faixa entre 750 e 1000  $\mu\text{mol de m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa (Figura 19). O ponto de compensação da luz está próximo 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e, considerando Taiz & Zeiger (2009), este valor é superior ao intervalo de RFA correspondente as plantas de pleno sol.

A taxa de fotossíntese líquida decresceu no período entre manhã e tarde (Tabela 10), sendo que os valores encontrados nas duas avaliações foram reduzidos quando comparados ao valor de 19.7 ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) descrito por Li et al. (2006). Contudo tais diferenças podem ser justificadas considerando as diferenças nos estádios fenológicos das plantas e nas condições ambientais de desenvolvimento. Vale destacar que as taxas encontradas estão condizentes com o lento crescimento inicial da espécie, em conformidade ao descrito por Kerridge & Lascano (1995) e Argel & Lascano (1999).

A condutância estomática e a transpiração de *C. argentea* foram similares aos valores médios obtidos para diversas espécies de matas de galeria no cerrado, descritas no estudo de Rossatto (2009). Porém menores em relação ao estudo de Li et al. (2006).



**Figura 19:** Taxa de fotossíntese ( $A_N$ ) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) para espécie *C. argentea*.  $A_N$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e RFA ( $\mu\text{mol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

**Tabela 10:** Médias das variáveis fotossíntese líquida ( $A_N$ ) condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração (E), aferidas em cratília aos 75 dias após o plantio.  $A_N$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), RFA ( $\mu\text{mol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e E ( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

Período do dia	$A_N$	$g_s$	E
9:00 horas	10,07 a	0.155 a	3.84 a
12:00 horas	7,02 ab	0.074 b	2.36 ab
15:00 horas	5,01 b	0.041 b	1.67 b
CV (%)	30.5	59.39	41.72

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### *Eficiência de inoculantes*

As plantas de cratília dos tratamentos contendo os inoculantes SEMIA 6464, SEMIA 6462, CR 33, CR 42 e CEPAC – B10 não apresentaram nodulação, não diferindo das plantas do tratamento sem inoculante (SI) (Figuras 20 e 21 e Tabela 11). As plantas dos tratamentos contendo feijão caupi inoculadas apresentaram nodulação e teores de N da parte aérea de 3,08 dag/Kg e 2,705

dag/Kg, respectivamente para SEMIA 6464 e SEMIA 6462. As plantas do tratamento contendo *C. spectabilis* inoculada apresentaram nodulação e teor de N da parte aérea 2.87 dag/Kg.

As plantas do tratamento contendo o inoculante CR 52 apresentaram nodulação, diferindo das plantas do tratamento sem inoculante (SI) (Figuras 22 e 23, Tabela 11). Também diferiram nos teores de N e proteína bruta da parte aérea em comparação às plantas do tratamento com adubação nitrogenada, que possuíram média superior. A eficiência nodular calculada foi de 0.189, valor reduzido quando comparada a eficiência de inoculantes testados em feijão caupi (Zilli et al., 2011).

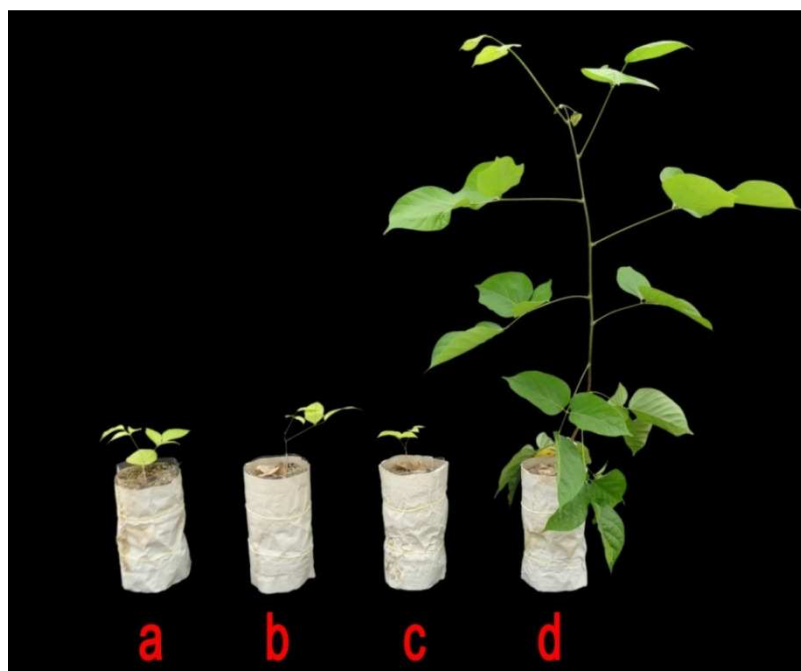
**Tabela 11:** Matéria seca da parte aérea (MSPA), número de nódulos (NN), Matéria seca dos nódulos (MSN), teores de N (N) e proteína bruta (PB) da parte aérea, após 150 dias do plantio, em três tratamentos: com inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). MSPA (g), NN (Un.), MSN (g), N (dag / Kg) e PB (dag / Kg).

Inoculaste	Tratamento	MSPA	NN	MSN	N	PB
SEMIA 6464	CI	0,31 b	0	0	1,36 b	8,5 b
	SI	0,27 b	0	0	1,24 b	7,75 b
	CN	8,74 a	0	0	3,89 a	24,31 a
	CV (%)	39,69	0	0	22,41	22.41
SEMIA 6462	CI	0,39 b	0	0	1,43 b	8,93 b
	SI	0,23 b	0	0	1,32 b	8,25 b
	CN	10,33 a	0	0	3,77 a	23.56 a
	CV (%)	61,84	0	0	25,82	25.82
CR 52	CI	7,64 a	237,6 a	0,808 a	2 b	12,5 b
	SI	0,23 b	0 b	0 b	1,46 c	9,12 c
	CN	11,55 a	0 b	0 b	3,38 a	21,12 a
	CV (%)	45,72	55,26	39,12	7,14	7.14
CR 33	CI	0,45 b	0	0	1.27 b	7,93 b
	SI	0,28 b	0	0	1.45 b	9,06 b
	CN	13,74 a	0	0	2.97 a	18,56 a
	CV (%)	66,33	0	0	16.32	16.32
CR 42	CI	0,32 b	0	0	1,42 b	8.87 b
	SI	0,19 b	0	0	1,43 b	8.93 b
	CN	15,34 a	0	0	3,69 a	23.06 a
	CV(%)	41,77	0	0	12,13	12.13
CEPAC – B10	CI	0,28 b	0	0	1,37 b	8.56 b
	SI	0,22 b	0	0	1,48 b	9.25 b
	CN	12,09 a	0	0	3,07 a	19.18 a
	CV (%)	29,01	0	0	14,85	14.85

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 20:** Plantas de *C. argentea* com 150 dias: (a) planta com inoculante SEMIA 6462 (b) planta com inoculante SEMIA 6464; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N. Fotografia e tratamento da imagem: Paulo Hilst.



**Figura 21:** Plantas de *C. argentea* com 150 dias: (a) planta com inoculante CEPAC-B10; (b) planta com inoculante CR 42; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N. Fotografia: Eduardo Mattar / Tratamento da imagem: Tadeu Luna.



**Figura 22:** Plantas de *C. argentea* com 150 dias: (a) planta com inoculante CR 33; (b) planta com inoculante CR 52; (c) planta sem adubação de N e sem inoculante e (d) planta sem inoculante e com adubação de N. Fotografia: Eduardo Mattar / Tratamento da imagem: Tadeu Luna.



**Figura 23:** Raiz de planta de cratília inoculada com CR 52 após 150 dias do plantio. Presença de nódulos e bom desenvolvimento da raiz principal.

*Desenvolvimento das plantas inoculadas e efeito da nodulação em funções do tempo.*

As plantas inoculadas com SEMIA 6464, SEMIA 6462, CR 33, CR 42 e CEPAC – B10, não apresentaram nodulação. Após 145 dias, as médias das variáveis altura, número de folhas e número de nós seguiram a mesma tendência para os tratamentos com e sem inoculação (CI e SI), ambas inferiores ao do tratamento com adubação nitrogenada (CN) (Tabela 12).

Somente as plantas inoculadas com CR 52 apresentaram nodulação e, após 145 dias, não houve diferença significativa entre as médias das variáveis número de nós e número de folhas dos tratamentos com inoculante (CI) e com adubação nitrogenada (CN), sendo que ambas foram superiores ao tratamento sem inoculante (SI). Para a média da variável altura, os três tratamentos apresentaram diferenças significativas, sendo que o tratamento com inoculante (CI) ocupou posição intermediária entre os três tratamentos (Tabela 12).

**Tabela 12:** Médias das variáveis número de nós, número de folhas e altura, aos 145 dias após o plantio, dos tratamentos: com inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). Especificamente para os tratamentos CI, foram utilizados os inoculantes: SEMIA 6464, SEMIA 6462, CR 33, CR 42, CR 52 e CEPAC – B10. Número de nós (Un.), número de folhas (Un.) e altura (cm).

Inoculante	Tratamento	Número de Nós	Número de Folhas	Altura
SEMIA 6464	CI	13.1725 b	8.197 b	1.08939 b
	SI	11.8138 b	7.652 b	1.05923 b
	CN	19.9784 a	18.723 a	1.67301 a
	CV (%)	10.50	19.12	7.74
SEMIA 6462	CI	12.8263 b	8.130 b	1.0708 b
	SI	11.7780 b	9.4928 b	0.9093 b
	CN	22.2889 a	21.7683 a	1.7356 a
	CV (%)	8.77	10.87	20.70
CR 33	CI	2,40 b	1,8 b	7,02 b
	SI	2,80 b	2,00 b	5,52 b

CEPAC B10	CN	12,60 a	12,20 a	63,03 a
	CV (%)	25,37	25,15	44,69
	CI	2,20 b	1,80 b	5,20 b
	SI	1,50 b	0,75 b	4,35 b
	CN	12,40 a	11,80 a	66,54 a
	CV (%)	22,17	22,86	39,89
CR 42	CI	3,20 b	2,00 b	6,56 b
	SI	2,40 b	2,00 b	5,42 b
	CN	15,00 a	14,40 a	76,54 a
	CV (%)	21,44	15,75	47,18
CR 52	CI	8,60 a	8,60 a	32,54 b
	SI	2,60 b	2,00 b	5,50 c
	CN	12,00 a	11,00 a	62,42 a
	CV (%)	32,28	36,57	31,55

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Foi possível observar o efeito da nodulação aos 85 dias após plantio onde é possível observar diferenças para as médias da variável número de folhas entre os tratamentos com (CI) e sem inoculante (SI). As médias dos tratamentos CI e SI, para as variáveis número de nós e altura de plantas, apresentaram diferenças significativas a partir dos 100 dias após o plantio (Tabela 13).

**Tabela 15:** Médias das variáveis, número de nós, número de folhas e altura, no período de 70 a 145 dias após o plantio, para os tratamentos: com inoculante e sem adubação nitrogenada (CI), sem inoculante e sem adubação nitrogenada (SI) e com adubação nitrogenada e sem inoculante (CN). Especificamente para o tratamento CI, foi utilizado o inoculante CR 52. Número de nós (Un.), número de folhas (Un.) e altura (cm).

Cond /		Número de Nós				
tempo	70	85	100	115	130	145
CI	1.57bD	3.2bC	3.8bC	5bBC	6.2bB	8.6aA
SI	1bB	1.2bB	1.4cB	1.6cB	2.4cA	2.6bA
CN	5.25aC	6aC	6.75aBC	8.75aABC	11aAB	12aA
Cond /		Número de Folhas				
tempo	70	85	100	115	130	145
CI	1.57bE	3.2bD	3.8bCD	5bBC	6.2bB	8.6aA
SI	1bB	1.2cB	1.2cB	1.4cB	2cA	2bA
CN	5aA	6.75aA	6.75aA	8.5aA	10.25aA	11aA
Cond /		Altura de Planta				
tempo	70	85	100	115	130	145
CI	6.04bE	9.3bD	12.12bCD	17.08bBC	23.72bB	32.54bA
SI	4.43bA	4.58bA	4.6cA	4.72cA	5.26cA	5.5cA
CN	13.72aD	21.9aCD	24.87aCD	38.17aBC	48.77aAB	62.42aA

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÕES

- A técnica de recobrimento com superfosfato triplo em sementes não resultou em benefícios para o desenvolvimento inicial da espécie *C. argentea* e prejudicou a germinação e o vigor das sementes.
- Plantas de *C. argentea* inoculadas com CR 52 apresentaram nodulação e desenvolvimento em substrato esterilizado de areia e vermiculita (2:1; v:v) e em ambiente protegido.
- Foi possível observar o efeito da nodulação em plantas inoculadas com CR 52 a partir dos 85 dias após o plantio.
- O amido e as proteínas são os principais componentes de reserva em sementes de *C. argentea*.
- A fotossíntese para *C. argentea* é mais elevada no período da manhã, sendo que as maiores taxas ocorreram na faixa de 750 e 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa.

## REFERÊNCIAS

ABEL, S.; TICCONI, C. A.; DELATORRE C.A.. Phosphate sensing in higher plants. **Physiol. Plant.** 115:1-8. 2002

ALVAREZ V., V.H.; DIAS, L.E.; RIBEIRO, F.S.; SOUZA, R.B. & FONSECA, C.A. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas.** Viçosa, MG, Editora UFV, 2001. 131p.

A.O.A.C. - ASSOCIATIONS OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists.** 18. ed., 2005. method 996.06 p. 20-25.

ARGEL, P. J.; LASCANO, C. E. *Cratylia argentea*: Uma nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos em zonas subhúmedas tropicales. In: SÁNCHEZ, M.D; MÉNDEZ, R. M. **Agroforestería para La producción animal en América Latina.** Roma: FAO, 1999. ISBN 92-5-304257-5. p. 181 - 193

ARGEL, P. J.; LASCANO, C. E. *Cratylia argentea*: Uma nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos em zonas subhúmedas tropicales. **Pasturas tropicales,** Vol. 20, No 1, 2002. Disponível em: < [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos\\_Ciat/PAST2018.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/PAST2018.pdf) > Acesso em: 29 de out de 2014.

ARGEL, P. J.; LOBO DI PALMA, M.; ROMERO, F.; GONZÁLEZ, J.; LASCANO, C. E.; KERRIDGE, P. C.; HOLMANN, F. Silage of *Cratylia argentea* as dry-season feeding alternative in Costa Rica. In: FAO ELECTRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE, 1999, Rome. **Silage making in the tropics with particular emphasis on smallholders: proceedings.** Rome: FAO, 2000. p. 65-67.

BÁRCENAS, D. M. M.; CORREA, C. R. B; OROZCO, M. S. S.; CONDE, C. I. C. C.; ESCOBAR, R. Respuesta fisiológica de semillas de *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze a condiciones de almacenamiento y crioconservación. **Acta agronômica,** v. 58, n 3, p. 167-173, 2009.

BERGER D, ALTMANN T. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. **Genes Dev.** 14: 1119-1131, 2000.

BIELESKI R.L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 225–252.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v.170, p.489-504, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: ANFAR/CBNA/SDR, 2005.

CALAZANS, G. M.; MIRANDA, G. A.; TEIXEIRA, J. N.; MASTRANGOLO, W. J. R.; MOREIRA, J. A. A.; CRUZ, J. C.; MARRIEL, I. E. Isolamento e seleção de estirpes de rizóbios eficientes na fixação biológica de nitrogênio da *Cratylia argentea*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28, 2010. Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. CD-Rom.

CASTILLO, A. R.; BARBOSA, O. P.; ARANGO, J. L. P.; CERINZA, O. J.; PINZÓN, S. M.; CORREAL, W. A.; BARRETO, A. R. **Establecimiento, manejo y uso de La leguminosa arbustiva forrajera *Cratylia argentea* cv Veranera em el Piedeminte Lianero**. Villavicencio: CORPOICA, 2007. ISBN 978.958.8311.65.4. 24p.

COOK, B.G., PENGELLY, B.C., BROWN, S.D., DONNELLY, J.L., EAGLES, D.A., FRANCO, M.A., HANSON, J., MULLEN, B.F., PARTRIDGE, I.J., PETERS, M. AND SCHULTZE-KRAFT, R. **Tropical Forages: an interactive**

**selection tool**. Brisbane: CSIRO, DPI&F, CIAT e ILRI, 2005. Disponível em: < <http://www.tropicalforages.info/> > Acesso em: 28 de out de 2014

DAMATTA, FM; LOOS, RA; SILVA, EA; LOUREIRO, ME. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. **Journal of Plant Physiology**, 159: 975-981, 2002

FAVA, C. L. F. **Aspectos fisiológicos de sementes de quatro espécies nativas com potencial ornamental**. Cuiabá: UFMT, 2008. 88p.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006.

HERAZO, M. H. **Revisión general de los aspectos fundamentales de la leguminosa *Cratylia argentea* (Veranera)**. Sincelejo: Universidad de Sucre, 2006. 48 p.

KERRIDGE, P. C.; LASCANO, C. E. Leguminosas arbustivas em sistemas de producción em el Trópico. In: Pizarro, E.; CORADIN, L. **Potencial Del género *Cratylia* como leguminosa forrageira. Memorias del taller de trabajo realizado el 19 y 20 de julio de 1995, Brasília, DF, Brasil**. Cali: CIAT. p. 98 – 106.

LASCANO, C.; RINCÓN, A.; PLAZAS, C. AVILA, P.; BUENO, G.; ARGEL, P. J. **Cultivar Veranera (*Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze) – Leguminosa arbustiva de usos múltiples para zonas com períodos prolongados de sequía em Colombia**. Cali: CIAT, 2002. 24 p.

LEVIEN, A. M. **Sementes de soja recobertas com diferentes fontes e dosagens de fósforo**. Pelotas: UFPel, 2010. 53p.

LI, W.; YUNFEI, Y.; JINXIANG, L.; FANG, M. Radiation use and stomatal behaviour of three tropical forage legumes. **Tropical Grasslands**, Volume 40, 231–236, 2006.

MAASS, B. L. Evaluación agronómica de *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze en Colombia. In: Pizarro, E.; CORADIN, L. **Potencial Del género *Cratylia* como leguminosa forrageira. Memorias del taller de trabajo realizado el 19 y 20 de julio de 1995, Brasília, DF, Brasil.** Cali: CIAT. p. 62 – 74.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas.** Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

MARSCHNER H. 1999. **Mineral Nutrition of Higher Plants.** Academic Press, London. 889 p.

NORRIS, D. O., DATE, R. A. Legume bacteriology. In: SHAW, NJL, BRYAN, W. W. ed.. **Tropical pasture research, principles and methods.** Hurley: CAB, 1976. p. 234 -274. (Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops Bulletin, 51).

NOVAIS, R. F. de; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. de. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J. de; GARRIDO, W. E.; ARAUJO, J. D. de; LOURENÇO, S. (Coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo.** Brasília: EMBRAPA – SEA, 1991. p.189 – 246.

OLIVEIRA, F. L. de; PITARD, R. M.; SOUTO, S. M. **Seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas *Arachis pintoi* e *Cratylia argentea*.** Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 1998, ISSN 0104-6187.

PESKE, F. B.; BAUDET, L.; PESKE, S. T. Produtividade de plantas de soja provenientes de sementes tratadas com fósforo. **Revista Brasileira de Sementes**, 2009, v. 31, n. 1, p. 95-101.

PIZARRO, E. A. Especies arbustivas, gramíneas, y leguminosas para El tropico americano. In: IX Seminario de pastos y forrages, 2005. San Cristóbal. Disponível em: < [http://www.avpa.ula.ve/ eventos / ix\\_seminario\\_pastosyforraje / Conferencias/C3-EstebanPizarro.pdf](http://www.avpa.ula.ve/ eventos / ix_seminario_pastosyforraje / Conferencias/C3-EstebanPizarro.pdf) > Acesso em: 29 de out de 2014.

PIZARRO, E. A.; CARVALHO, M. A.; RAMOS, A. K. B. Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado Brasileño. In: Pizarro, E.; CORADIN, L. **Potencial Del género *Cratylia* como leguminosa forrageira. Memorias del taller de trabajo realizado el 19 y 20 de julio de 1995, Brasília, DF, Brasil.** Cali: CIAT, p. 40 – 49.

QUEIROZ, L. P. de. **O gênero *Cratylia* Martius ex Bentham (LEGUMINOSAE: PAPILIONOIDEAE: PHASEOLEAE): revisão taxonômica e aspectos biológicos.** Campinas: UNICAMP, 1991.129p.

QUIROZ, J. F. E.; GARAY, A. H.; PEREZ, J. P.; CARRILLO, A. R. Q.; COSSIO, J. G. M. Densidad de siembra y frecuencias de corte em el rendimiento de *Cratylia argêntea* (Desvaux) O. Kuntze en el sul de Veracruz. **Técnica Pecuaria en México**, 2003, v. 41, n. 1, p. 75-84.

RAMOS, A. K. B.; SOUZA, M. A. de; PIZARRO, E. A. **Algumas informações sobre a produção e o armazenamento de sementes de *Cratylia argêntea*.** Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2003. ISSN 1517-0187. 4p.

REBAFKA, F. P.; BATIONO, A. & MARSCHNER, H. Phosphorus seed coating increases phosphorus uptake, early growth and yield of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) grown on an acid sandy soil in Niger, West Africa. **Fertilizer Research** 35: 151-160, 1993.

ROSSATTO, D. R.; HOFFMANN, W. A.; FRANCO, A. F. Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. **Acta bot. bras.** 23(2): 499-508. 2009

SANABRIA, D.; SILVA-ACUÑA, R.; OLIVEROS, M.; MENRIQUE, U. Germinación de semillas de lãs leguminosas arbustivas forrajeras *Cratylia argêntea* y *Cassia moschata* sometidas a inmersión en ácido sulfúrico. **Bioagro**, 2004, v. 16, n.3

SANTOS, C. E. de R. e S; BEZERRA, R. de V.; FREITAS, A. D. S. de; SEIDO, S. L.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. **Modificações de vasos Leonard com garrafas descartáveis tipo Pet.** EMBRABA Agrobiologia: Seropédica, 2009. 4p.

SARRIA, P. I.; MARTENS, S. D. The voluntary intake in growing pigs of four ensiled forage species. **Agricultural and food science**, 2013, n 22, p. 201-206.

SCHACHTMAN D.P.; REID R.J.; AYLING S.M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **PlantCPhysiol.** 116: 447–453.

SOARES, M. M. **Efeito do recobrimento de sementes com fósforo na qualidade de sementes, nodulação e crescimento das plantas de soja.** Viçosa: UFV, 2009. 61p.

SOARES, M. M; ARAÚJO, E. F.; OLIVEIRA, G. L.; SILVA, L. J. da; SORIANO, P. M. Nodulação e crescimento de plantas de soja em função do recobrimento das sementes com fósforo. **Biosci. J.**, 2014, v. 30, n. 5, p. 1438-1446

TRIGO, L. F. N.; PESKE, S. T.; GASTAL, M. F. da C.; VAHL, L. C.; TRIGO, M. F. O. Efeito do conteúdo de fósforo na semente de soja sobre o rendimento da planta resultante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 111-115, 1997.

VASCOCELLOS, C. A.; DURÃES, F. O. M.; RIBEIRO, R. A.; MAGALHÃES, P. C. Peletização de sementes de sorgo com calcário e com termofosfato e sua influência na absorção de fósforo e de potássio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2000, n 24, p. 545-551.

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M. Avaliação agronômica da *Cratylia argentea* na Zona da Mata de Minas Gerais. In: Pizarro, E.; CORADIN, L. **Potencial Del género *Cratylia* como leguminosa forrageira. Memorias del taller de trabajo realizado el 19 y 20 de julio de 1995, Brasília, DF, Brasil.** Cali: CIAT. p. 29 – 39.

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. de A. Níveis críticos externos e internos de fósforo da *Cratylia argentea* em um solo ácido . **Pasturas Tropicales**, v. 18, n. 3, p. 33-36, 1996

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. de A. Resposta da *Cratylia argentea* à aplicação de fósforo e calcário em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 1, p. 15-18, 1997

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.819 p.

THEODOROU M.E.; PLAXTON W.C. 1993. Metabolic adaptations of plant Respiration to nutritional phosphate deprivation. **Plant Physiol.** 101: 339–344.

THOMPSON, J.C. **Methods for the Determination of Carbohydrates by Ion Chromatography**. Proceedings of the 1990 Sugar Processing Research Conference, Sugar Processing Research Inc., San Francisco, California, USA, 381–396, 1990.

VON GROLL U, BERGER D, ALTMANN T. The subtilisin-like serine protease SDD1 mediates cell-to-cell signaling during Arabidopsis stomatal development. **Plant Cell** 14: 1527-1539. 2002.

ZELONKA, L.; STRAMKALE, V.; VIKMANE, M. Effect and after-effect of barley seed coating with phosphorus on germination, photosynthetic pigments and grain yield. **Acta Universitatis Latviensis**, Vol. 691, Biology, pp. 111–119, 2005

ZILLI, J. E.; SILVA NETO, M. L. da; FRANÇA JÚNIOR, I.; PERIN, L.; MELO, A. R. de. Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para soja. **R. Bras. Ci. Solo**, 35:739-742, 2011.